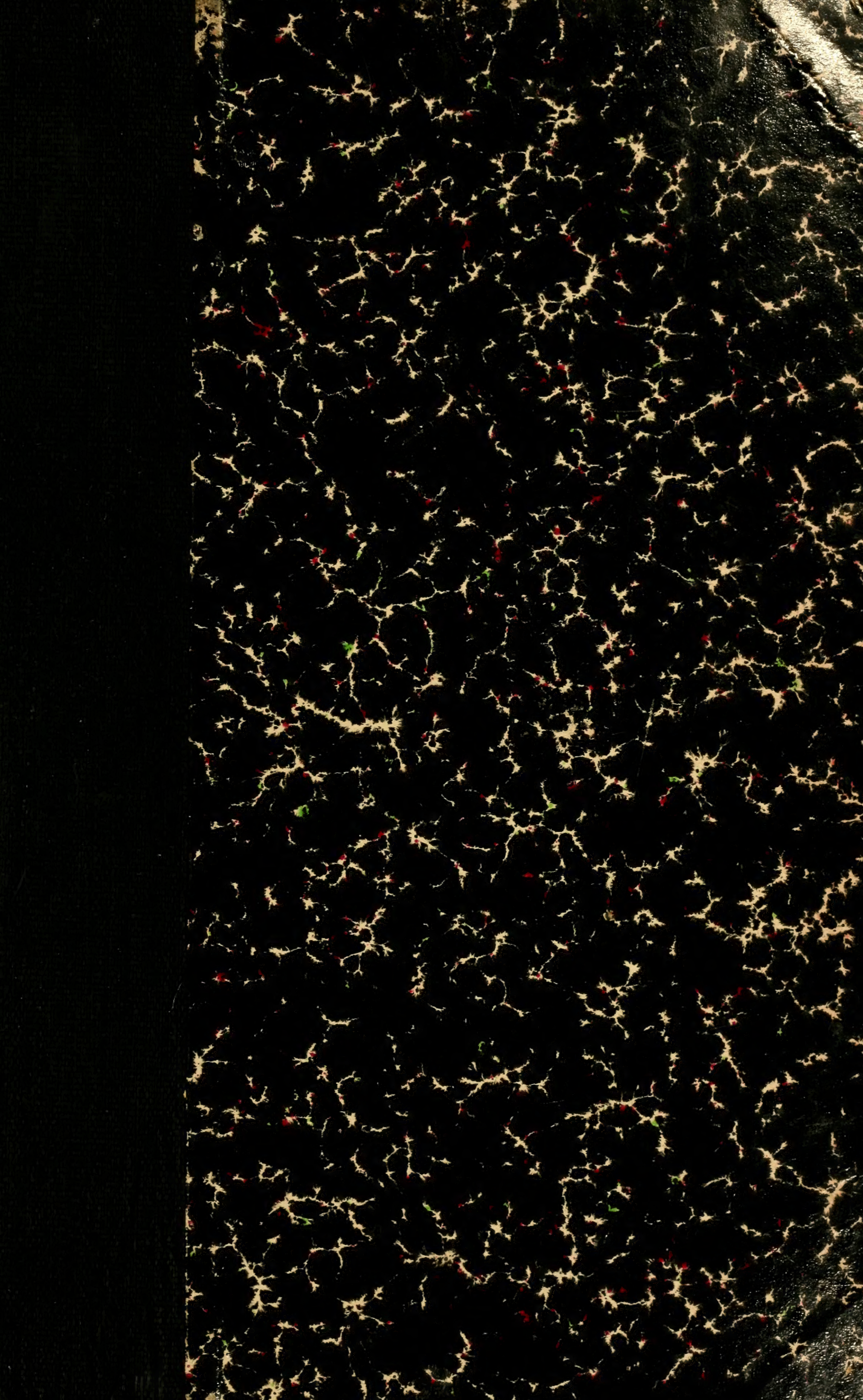


BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA

AÑO IV = TOMO III

MADRID
IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1915

ÍNDICE DEL TOMO III

Págs.

Págs.

SESIÓN DEL 23 DE ENERO DE 1914



Estudio de Vibriones.—Dos especies nuevas

POR

L. LAMAS

Desde el descubrimiento del vírgula de Koch fueron encontrándose multitud de vibriones que se asemejan extraordinariamente al mismo por múltiples y diversos caracteres; estudiados unos con merecido detenimiento y abandonados otros al no poderse identificar con el vibrión colérico, se vino en conocimiento de que hay numerosísimas especies que muy bien pueden denominarse simili-coléricas. A esta categoría pertenecen nuestras razas de vibriones por varios caracteres, comunes con el cólera unos y diferentes á él en cuanto á otros se refiere.

Los vibriones de que tratamos en esta nota proceden de la región catalana, en donde ocurrió una epidemia de verdadero cólera en 1911, que las medidas sanitarias, competentemente dirigidas, acertaron á cortar radicalmente. De dicha epidemia se aisló también un vibrión, clasificado como colérico típico por todos sus caracteres.

Por lo que á nuestros vibriones concierne, son tres las razas que estudiamos detenidamente y que provisionalmente denominaremos: vibrión Vendrell, aislado por los Dres. Murillo y Mendoza de deyecciones sospechosas de cólera; vibrión Ripoll, también aislado de deyecciones de enfermo coleriforme, y, por último, vibrión Freser, aislado repetidas veces de las aguas del río del mismo nombre.

Y hechas estas ligeras observaciones sobre la procedencia, entramos ya en materia.

Los tres vibriones aparecen desde luego con las formas virgulares, que no dan lugar á dudas. El v. Ripoll y v. Vendrell son muy semejantes, pues ambos aparecen algo más largos y recios que el del cólera, menos curvos ó, lo que es lo mismo, la curva es más amplia; se encuentran también formas sumamente cortas; otros aparecen rectos ó casi rectos: tienen muy escasa tendencia á formar espirilos. El v. Freser es más fino y

también curvo: éste parece tener más tendencia que los otros dos á las formas espiriloideas.

Nuestros vibriones son poco exigentes en cuanto á coloración: se tiñen perfectamente por los colorantes de uso corriente en los laboratorios; en cambio no toman el Gram.

Crecen bien en los medios corrientes de cultivo, tanto sólidos como líquidos; los caracteres de estos cultivos nada tienen de característico; únicamente merece indicarse que el v. Freser pectoniza el suero Loeffler, da un aspecto mucoso en cultivo de agar, y en todos un olor desagradable, que recuerda al que produce el b. Coli.

Por lo que á los cultivos en gelatina se refiere, sólo indicaremos que el v. Freser la liquida en forma de embudo. Las otras dos razas, Ripoll y Vendrell, no la liquidan.

En las placas del mismo medio aparecen colonias numerosísimas, puntiformes, algo más grandes la mayoría de ellas, redondeadas, con bordes transparentes bien limitados, y un centro finamente granuloso y amarillento. El color de las colonias, vistas por transparencia, es ligeramente azulado.

Las colonias que en las placas de agar hemos observado son también transparentes, azuladas, y viéndolas con la lente aparecen granulosas, amarillentas, con bordes bien limitados, regulares en unas y festoneados en otras.

Las placas de agar Dieudonné presentan colonias de color gris lechoso, con una elevación cónica en el centro.

Nuestras dos razas de vibriones Ripoll y Vendrell no coagulan la leche en cambio; el vibrión Freser la coagula. Hemos de hacer notar aquí que el tubo en el que sembramos, paralelamente (como en todos nuestros ensayos), cólera típico (raza c. Vendrell), presentó una coagulación aún más intensa que la del Freser, hecho que no está de acuerdo con lo que dicen diferentes autores; alguno de éstos, como es Kolle, en su tratado de bacteriología experimental, niega esta propiedad al vibrión del cólera. Courmont (1) y Bezancon (2) dicen lo mismo. Nosotros hemos visto al cólera típico coagular la leche, pues como antes decimos, nuestra raza c. Vendrell la coagula, y otros autores han visto lo mismo con las razas que manejaban, por lo que creemos que la coagulación de la leche por el vibrión del cólera no es un carácter constante, sino *variable*, de las distintas razas del agente productor de la infección intestinal colérica.

Los vibriones que estudiamos son movibles; observados en gota pen-

(1) *J. Courmont:* Compend. Bacte. practica. Edic. española.
(2) *F. Bezancon:* Element. microb. clinica. Edic. española.

diente escapan á la vista, pero sus movimientos no son comparables al de un enjambre de mosquitos, como se ha dicho de los v. coléricos; estos movimientos son debidos á los flagelos de que están provistos y que las microfotografías demuestran. El v. Freser es monoflagelado; pero las curvas que su flagelo tiene son más apretadas y uniformes que las del vibrión de Koch. Los vibriones Ripoll y Vendrell son bipolares y poliflagelados, con un flagelo en un polo y dos ó tres en el opuesto; ambos aparecen iguales en las microfotografías.

La investigación de la propiedad hemolítica la hicimos en medios líquidos; nuestros vibriones no son hemolíticos; en cambio las dos razas de cólera típico que paralelamente hemos sembrado, dieron una hemolisis claramente manifiesta, y aquí también, como en la coagulación de la leche, hemos de disentir de la opinión de varios autores que niegan propiedades hemolizantes á los vibriones coléricos típicos.

La cuestión de la hemolisis, con relación á los vibriones, adquirió carácter agudo cuando Kraus, en varios trabajos (1), estudió los vibriones de El Tor, que, por ser hemolíticos, no consideraba el mencionado autor como legítimos vibriones coléricos; opinión que algunos autores, como van Loguen (2), aceptan, y otros, como Hüntemuller (3), niegan.

Nosotros, que repetidamente hemos hecho la investigación hemolítica, podemos afirmar que, como más arriba dejamos consignado, nuestras razas de cólera c. Vendrell (España), c. Bari (Italia), son perfectamente hemolíticas. Es, por lo tanto, como Murillo y Goetlich sostienen, la propiedad hemolítica un carácter variable para el vibrión colérico. Nuestros resultados están de acuerdo con los obtenidos por Crendiropoulo (4) en Egipto, quien, de 19 muestras examinadas al efecto, encontró dos, que denomina v. Soulem y v. Habib, que dieron hemolisis positiva.

Inyectados los vibriones á conejos, cobayas y palomas intraperitonealmente los primeros é intrapectoral la inyección en estas últimas, no acusaron trastornos graves los animales. Tuvimos especial interés en hacer inyecciones á las palomas, porque el mismo Kolle (5) atribuye un grandísimo valor para la clasificación de un vibrión al poder patógeno para la paloma, llegando á decir terminantemente que basta que un vibrión

(1) *Kraus, L. Graham y Zeky Zia:* Ueber Hämotoxine und die Bluplatten methode. *Deutch. Med. Wojsch.*, núm. 32, 1911.

(2) *Van Loguen:* Ueber den Unterschied zwischen Cholera und El Tor vibrionen. *Centb. f. Bact. orig.*, tomo 67-6.

(3) *Zeitsch. für Higyene*, 1911.

(4) *Crendiropoulo:* Raport sur l'examen des selles de voyageurs, etc. Alejandría, 1912.

(5) *Kolle y Herzlch:* Die Experimentale Bakteriologie, etc., tomo I, 3.ª edición, pág. 221.

mate á la paloma para que pueda asegurarse que no se trata del vibrión de Koch.

A nosotros nos parece esta afirmación demasiado categórica, toda vez que, como Clemente (1) demostró bajo la dirección del Dr. Murillo, la raza c. Bari de nuestra colección ha hecho morir á la paloma con pequeñas dosis á las dieciséis ó veinte horas, afirmación que Crendiropoulo (2) apoya, añadiendo que varios de sus vibriones *aglutinables* ejercieron la misma acción patógena. Debemos considerar, por lo tanto, á dicho poder patógeno del vibrión colérico como un carácter *inconstante*, variable de unas razas á otras.

Nuestros vibriones no forman esporos, no producen pigmentos y no dan ni la reacción de indol ni la nitroso-indólica, con lo cual damos por terminada esta rápida enumeración de sus principales caracteres, pasando á describir también suscintamente lo que á la aglutinación, desviación del complemento y fenómeno de Pfeiffer se refiere.

En cuanto á la aglutinación, podemos afirmar que ninguno de nuestros vibriones se aglutina por el suero anticolérico de nuestro Instituto, aglutinándose perfectamente los vibriones típicos que utilizamos como testigos; en cambio, puestos los vibriones en presencia de sueros inmunes, preparados al efecto con cada uno de ellos, la aglutinación ha sido siempre positiva para cada uno, en presencia de su suero correspondiente, mientras que el vibrión colérico no fué aglutinado por ninguno de estos sueros.

Y aquí, en la parte de aglutinación, hemos de hacer resaltar un hecho importante y es que el vibrión Freser no se aglutina nunca por ninguno de los sueros preparados con los otros vibriones, como tampoco estos vibriones son aglutinados por el suero Freser, mientras que, tanto el vibrión Ripoll como el Vendrell, se aglutinan *siempre* é *indistintamente* por los sueros de cada uno de ellos, aun usando diluciones al 1 por 3.000, lo cual nos hizo identificar al vibrión Ripoll con el Vendrell, considerándolo como dos muestras distintas de un mismo vibrión, y separar definitivamente al Freser de ellos.

En cuanto á las experiencias de desviación del complemento, las podemos resumir diciendo: 1.°, que todos y cada uno de nuestros vibriones en presencia de su suero respectivo, desvían el complemento; 2.°, que el vibrión Freser, en presencia de cualquiera de los sueros de los otros dos vibriones, no desvía el complemento, como tampoco los vibriones Ripoll y Vendrell, en presencia del suero Freser, lo desvía; y 3.°, que el vibrión

(1) *Clemente:* Sobre un carácter variable del vibrión del cólera. *Bol. del Instituto de Alfonso XIII*, núm. 26. Madrid, 1911.

(2) *Crendiropoulo:* Loc. cit., pág. 31.

Vendrell como el Ripoll, desvían el complemento, tanto en presencia del suero de su mismo nombre, como en contacto del suero preparado con el vibrión opuesto.

El fenómeno de Pfeiffer verificado *in vivo*, nos ha confirmado en un todo los resultados que la aglutinación y desviación del complemento nos habían mostrado, por cuya razón, en gracia á la brevedad, no detallamos.

Nuestras conclusiones son las siguientes: que ninguno de los tres vibriones, Ripoll, Vendrell y Freser pueden identificarse con el vibrión de Koch; que el vibrión Freser, forma grupo aparte de los otros dos; y que, los vibriones Ripoll y Vendrell, como antes dejamos indicado, son dos muestras de un mismo vibrión que identificamos en absoluto.

A la hora actual, figuran en la literatura cientos de vibriones, y es imposible tomar en cuenta á todos ellos, porque la mayoría se han encontrado ocasionalmente, sin haber sido objeto de un estudio completo de todos los caracteres necesarios para una clasificación de especies botánicas; por lo cual hemos tenido que atenernos á los conocidos y admitidos como especies distintas en las descripciones de los autores clásicos; así, pues, no encontrando en estas descripciones vibriones cuyos caracteres coincidan y encajen en el cuadro de los que nuestros vibriones poseen, hemos de creer, al menos provisionalmente, y mientras no venga una revisión detenida de la clasificación y agrupamiento de los vibriones, que el vibrión Vendrell y el Freser son dos especies nuevas, y por tanto, proponemos para distinguirlas en lo sucesivo que se denominen *vibrio Vendrellensis* y *vibrio Freseris*.

Los llamaremos, por lo tanto, por su género *vibrio* (de Fischer), ó microspira (de Schröter), designando la especie por la localidad primera en que se encontró el de Vendrell, y por el río, de cuyas aguas fué aislado en varias ocasiones, el Freser.

Con el estudio de estos vibriones creemos haber aportado una contribución al estudio recomendado por el *Office international d'Higyene Publique*, que encarece el conocimiento de los vibriones en las fases interepidérmicas, con el objeto de averiguar si existe ó no alguna relación entre ellos y el verdadero germen del cólera.

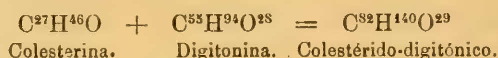


Determinación cuantitativa de la colesterina en la sangre

POR

R. CARRACIDO, MADINAVEITIA Y VARILLAS

Uno de los métodos reputados como más exacto para el fin expresado en el epígrafe es el de Windaus, que se funda en la propiedad, por él descubierta en la colesterina, de formar con la digitonina un compuesto de adición insoluble en el alcohol.



$$C^{27}H^{46}O + C^{55}H^{94}O^{28} = C^{82}H^{140}O^{29}$$

Colesterina. Digitonina. Colestérido-digitónico.

Extraída la colesterina por el alcohol caliente y tratada la disolución por otra también alcohólica de la digitonina cristalizada de Kiliani, se precipita el compuesto de adición y del peso de éste se infiere el de la colesterina, teniendo en cuenta que constituye la cuarta parte del precipitado.

Este método requiere cantidades tales de primera materia, que por su gran magnitud resulta de difícil aplicación en la clínica y hasta en las investigaciones fisiológicas.

Para obviar este inconveniente, Grigaud ha propuesto un método, no por pesada, sino colorimétrico, el cual se practica del siguiente modo:

De glóbulos ó de suero se toman 2 cent. cúb., que se colocan en un embudo de los en que pueda agitarse el contenido y se vierten encima 13 centímetros cúbicos de alcohol de 60°, alcalinizado con sosa en la proporción de 1 á 200. Después de efectuada la mezcla se añaden 15 cent. cúb. de éter, se agita y se extrae la capa acuosa inferior, reemplazándola después por 20 cent. cúb. de agua, que se introducen deslizándolos por las paredes del aparato. Transcurridos cinco minutos se vuelve á separar la capa acuosa y se repite el lavado en las mismas condiciones. Efectuado éste, se recibe el líquido etéreo en una cápsula de porcelana, y el residuo obtenido por evaporación á sequedad en baño de maría se disuelve en 5 cént. cúb. de cloroformo para practicar la reacción de Liebermann.

Esta se obtiene añadiendo á la disolución clorofórmica 2 cent. cúb. de anhídrido acético y 3 gotas de ácido sulfúrico de 66° C., que determinan la aparición del color rosa primero, del azul después y, finalmente, del verde, que presenta el máximum de intensidad á la media hora de efectuada la reacción. En otro tubo se procede lo mismo, tomando como tipo

una disolución clorofórmica de colesterina al 0'06 por 100, y si se dispone de un colorímetro de dilución, nada más fácil que calcular en el líquido-problema el contenido colestérico, siguiendo la técnica común á este género de determinaciones.

Se ha discutido la exactitud de este proceder, y para justipreciar su alcance lo hemos practicado repetidamente en cotejo con el adoptado por Weston y Kent, siguiendo las indicaciones de Windaus, y adquirimos la convicción de que su exactitud es sensiblemente la misma, lo cual nos ha decidido á preferir el de Grigaud, por ser más breve y sencillo que el citado de Weston y Kent.

En éste se trata la sangre por alcohol, teniéndola en la estufa durante veinticuatro horas, y después de separado el líquido por decantación, el residuo se trata por éter en las mismas condiciones del tratamiento anterior. Reunidos los extractos, el alcohólico y el etéreo, á ellos se incorpora el líquido resultante de haber lavado con alcohol caliente las albúminas anteriormente precipitadas, y el conjunto se saponifica con sosa en baño de maría hasta que el volumen quede reducido á unos 10 centímetros cúbicos, adicionando entonces agua de cal para producir un precipitado que arrastra la colesterina, el cual se recoge sobre un filtro para desecarlo y extraer de él mediante tratamientos con éter la colesterina arrastrada. De los glóbulos rojos de carnero se ha extraído, siguiendo el proceder de Grigaud, un promedio de colesterina de 0'62 por 1.000, y del mismo material practicando el método de extracción de Weston y Kent, pero evaluando la colesterina colorimétricamente, se ha obtenido 0'60 por 1.000. Estas diferencias son tan pequeñas, que inducen á considerar iguales los dos métodos respecto al valor de los resultados, conclusión corroborada por el análisis comparativo de los sueros correspondientes á la misma sangre de que procedían los glóbulos.

Para adquirir todavía mayor certeza hemos comparado los resultados de la evaluación de la colesterina por el método colorimétrico y por el de Windaus, pero habiendo seguido previamente el mismo proceder para su extracción. De una cantidad grande de suero de buey — 50 centímetros cúbicos — fué extraída la colesterina mediante las prolijas operaciones del método de Weston y Kent, destinando una pequeña parte á la evaluación colorimétrica y el resto á la precipitación por la digitonina, y las cifras obtenidas fueron respectivamente 0'92 y 0'89 por 1.000, cuyas diferencias, como se ve, son muy pequeñas.

Fundándonos en la propiedad de la colesterina de formar un compuesto de adición con la saponina deteniendo la hemolisis producida por esta última substancia, ensayamos un método de evaluación de la primera determinando previamente la cantidad mínima de la segunda capaz de

hemolizar 1 cent. cúb. de la emulsión de glóbulos rojos de carnero en suero fisiológico al 5 por 100 y ver hasta qué punto el suero ó la sangre hemolizada en solución isotónica es capaz de detener la hemolisis.

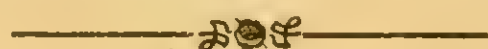
Con este propósito colocamos en una serie de tubos de ensayo cantidades iguales de suero y cantidades crecientes de disolución de saponina en suero fisiológico y pasados unos momentos añadimos al contenido de los tubos cantidades iguales de glóbulos rojos. Mediante este proceder se han podido apreciar diferencias de la proporción de colesterina, pero no tan pequeñas como exige la exactitud analítica.

Resulta de todo lo anteriormente expuesto que el proceder de Grigaud, por su relativa sencillez y por su alcance en la exactitud de los resultados es, no sólo suficiente, sino preferible á los demás para la determinación cuantitativa de la colesterina en la sangre.

LITERATURA

A. Windaus: Berichte d. Deutsch. Chem. geschellschaft, 42, pág. 241, 1909.
Grigaud: Le Cycle de la cholesterinemie. París, 1913.
Weston y *Kent: Journal of Médical Research*, Julio 1912.
Henes: Deutch. Archiv. für Klin Med., 1913.

(Trabajo hecho en el Laboratorio de Química biológica).



Sobre una nueva reacción microquímica del fósforo

POR

MAESTRE Y LECHA-MARZO

Los trabajos de microquimia interesan por los resultados que pueden suministrar al análisis toxicológico y por los hechos nuevos que pueden entregar á la histología, tampoco desprovistos de interés.

Esta breve nota preventiva está dedicada á consignar una curiosa metamorfosis de los glóbulos de fósforo por la acción del nitrato de plata, que hemos sido los primeros en encontrar.

Disolvemos una mínima cantidad (1) de fósforo en varios centímetros cúbicos de sulfuro de carbono, llevamos una gota al porta-objetos, aplicamos rápidamente el cubre-objetos, trasladamos el preparado á la platina del microscopio, hacemos pasar una gota de solución de nitrato de plata, y entonces la observación microscópica permite asistir á la formación de

(1) Precisaremos las cantidades para el experimento.

extensas películas, en cuyo seno se desarrollan todas estas formaciones, pseudo células, de las que dan idea bastante exacta las microfotografías que acompañan á esta nota. Señalemos las prolongaciones frecuentemente dicotomizadas que unen unas formaciones á otras, la disposición en serie, la semejanza de las que ocupan un mismo plano, etc. El examen de las microfotografías, de dos campos microscópicos elegidos al azar, demuestra mejor que toda descripción que no se trata de un fenómeno banal.

Por su constancia interesa á la toxicología, y más si tenemes en cuenta las dificultades que en algunos casos presenta la demostración toxicológica del fósforo. Este fenómeno ha pasado desapercibido á los autores que anteriormente habían estudiado la microquimia del fósforo (Helwig, Binda (1), Stœnesco y otros). Puede verse la fotografía publicada por Stœnesco (2), que confirma esta aseveración nuestra. Lo mismo le ha sucedido al profesor Sabbatini y á sus alumnos Eloisa Gardella (3) y Valdameri (4), que han estudiado la acción reductora de los vapores de fósforo sobre la placa fotográfica, y á Bottger y á Moissan, que hablan de la acción reductora del fósforo sobre las soluciones de nitrato de plata.

El hallazgo creemos que interesa á la histología, por la importancia y el interés que tiene siempre el método del nitrato de plata reducido, con el que Cajal (5) hizo parte de su obra; pero un sano espíritu científico nos inclina á no exagerar la importancia de este modesto hallazgo.

Aquí debemos recordar también las curiosas estructuras, que uno de nosotros viene estudiando desde 1909 (6), que es posible obtener tratando en el porta-objetos los colores de anilina por las soluciones de ácido fosfo-túngstico (y tal vez por el fijador de Rawitz, según ensayos que realizamos).

Para anular el interés que para la histología pueden tener estos hechos no creemos muy aplicable aquella opinión que supone que los fijadores coagulan por completo los albuminoides, fijan estas ó las otras substancias, impiden radicalmente toda acción lesiva ulterior. Levi y

(1) *Binda:* Nuovo metodi per la ricerca chimico legale del fosforo. *Giorn. di Méd. lég.*, año VII, 1900.

(2) *Stœnesco:* Nouveaux moyens de recherche de phosphore. *Ann. d'Hyg. publ. et de Méd. lég.*, 1904.

(3) *E Gardella:* Riconoscimento del fosforo mediante la lastra fotografica. *Archivio di Psichiatria, Medicina legale*, vol. XXIX, 1908.

(4) *Valdameri: Giorn. Intern. delle Scienze Mediche*, 1911.

(5) Como es sabido, el método de Cajal es hoy practicado corrientemente en Europa por los histólogos y anatomo-patólogos.

(6) *Sociedad Española de Biología*, 1913.



Carazzi (1) preguntan si, después que la parte superficial del pedazo que fijamos está ya coagulada, sabemos nosotros cómo ésta se comporta en las relaciones entre la solución externa y el contenido líquido de la parte más interna del pedazo. Y agregan en seguida que evidentemente se necesitan conocimientos de química biológica y de química física que todavía nos faltan.

Regaud y Policard (2) estudian en estos días este problema magno de la fijación. «Los elementos anatómicos contienen una multitud de substancias, conocidas ó desconocidas, figuradas bajo una forma ó estructura determinadas ó bien amorfas, localizadas ó difusas. Los fijadores usuales conservan, insolubilizándolas, algunas de estas substancias; no conservan otras; otras desaparecen durante la serie de tratamientos que siguen á la fijación». Y hablan de procedimientos para la demostración de detalles de estructura intracelular, «para los cuales se puede legítimamente ambicionar el calificativo de microquímicos».

Los hallazgos microquímicos deben interesarnos más que lo que se supone. Refiriéndose á las reacciones microquímicas que estudia la histología animal, declaran los citados Levi y Carazzi que constituyen todavía un capítulo muy poco adelantado.

Marinesco, Legendre y otros autores, sirviéndose del ultramicroscopio, han puesto en duda algunas de las estructuras corrientemente admitidas. Se inicia un serio trabajo de discusión, y, como diría Cajal, se discute porque se avanza. Y á este propósito recordábamos nosotros, en otro lugar, que la labor del maestro español, estudiando conexiones, origen, colaterales, bifurcación y terminación de prolongaciones celulares, diferenciación de especies neuronales, estratos que constituyen en los diferentes órganos, etc., se consolida todavía más con los nuevos resultados.

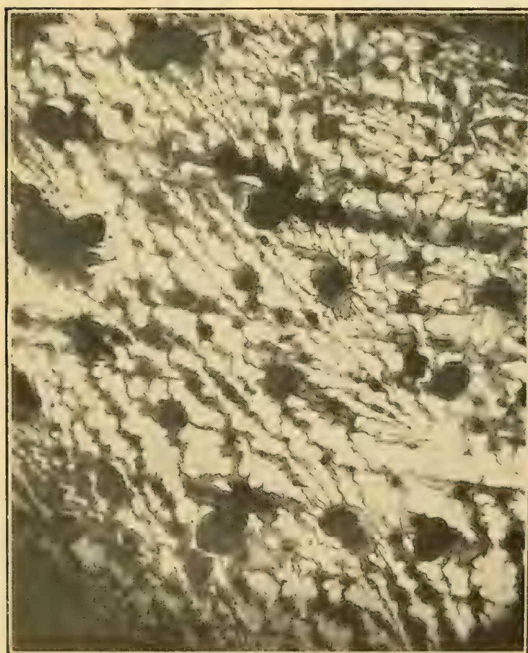
Refiriéndose á las estructuras que nosotros hemos obtenido con el nitrato de plata, nuestro ilustre compatriota Turró escribe: «El hecho es interesantísimo, entre otros motivos, por lo que puede contribuir á desvanecer la atmósfera creada contra la teoría de la neurona. La neurona será siempre la neurona, aunque histológicamente no lo pareciese; hay la razón fisiológica para que lo sea, tan soberana de sí, que todo lo demás es complementario».

(1) *Carazzi* y *Levi:* Técnica microscópica, 1911.

(2) *Regaud* y *Policard:* Fixation «morphologique» et fixation de «substances». Soc. de Biol. París, 1913.—Véanse también las comunicaciones de Mayer, Schæffer y Rathery á la misma Sociedad, sesiones del 7 de Febrero y del 1.° de Agosto de 1913, y Mawas, Mayer y Schæffer: Action de quelques fixateurs des cellules nerveuses sur la composition du tissu. Soc. de Biol., 19 Diciembre 1913.

T. Maestre y A. Lecha-Marzo: **Sobre una nueva reacción microquímica del fósforo.**





Acción del fósforo sobre las soluciones de nitrato de plata.

Sobre el aumento de peso determinado por el extracto tiroideo

POR

G. MARAÑÓN Y G. GARCÍA URDIALES

De todos es conocida la propiedad del extracto de glándula tiroidea de activar las oxidaciones orgánicas. Esta propiedad, que se define exactamente con la denominación de «función de fuelle del tiroides», que le dan los alemanes, pues, efectivamente, el hormón tiroideo parece que obra á la manera de un fuelle que sopla y activa las combustiones del organismo, tiene por efecto inmediato determinar una pérdida del peso del cuerpo. Por esto, en la insuficiencia espontánea del tiroides — mixedema — hay tendencia á la obesidad, y en el hipertiroidismo espotáneo — enfermedad de Basedow — hay enflaquecimiento, y aun en otros muchos estados de enflaquecimiento y delgadez espontáneos es preciso admitir la patogenia hipertiroidea (1). Por esto también la ingestión del tiroides, fresco ó preparado, en forma de inyecciones ó de tabletas, produce una rápida pérdida de peso, que ha sido aprovechada para las curas de desgrasamiento. La rapidez y seguridad de este remedio son tan grandes, que su empleo se ha hecho de uso vulgar, y puede decirse que apenas hay obesos — y sobre todo obesas — que no lo hayan intentado.

Sin embargo, á veces ocurre el fenómeno paradógico de que los individuos sometidos á la cura tiroidea, en lugar de perder de peso, aumentan. Al examen de este hecho queremos dedicar la presente nota.

El aumento de peso determinado por la tiroidina puede obedecer á los siguientes mecanismos:

1.° La dosis administrada en sujetos que aumentan de peso por insuficiencia tiroidea es demasiado pequeña, y vence el fenómeno patológico al tratamiento que se le opone. En este caso se trata, en realidad, de un resultado incorrecto.

2.° Otras veces ocurre que la lesión del tiroides es tan intensa, que no sólo afecta á los hormones que rigen la nutrición, sino á la totalidad de la función tiroidea. En ese caso, el cuadro clínico de la insuficiencia tiroidea más ó menos leve, con estado general relativamente bueno y aumento del peso por retardo de la nutrición general, es sustituído por un estado de caquexia grave con enflaquecimiento. Esto ocurre en muchos creti-

(1) *Marañón:* Sobre la semeiología y patogenia de la delgadez y el enflaquecimiento. *Revista Clínica de Madrid*, I, 1913.

nos cuyo tiroides está hondamente afectado y en los que hay una delgadez caquéctica. Esto es también lo que ocurría, en mayor grado aún, en los casos, hoy por fortuna desaparecidos, de caquexia estrumipriva, desarrollada en los enfermos de bocio, á los que los primitivos cirujanos del tiroides extirpaban *la totalidad* de la glándula; y lo que todavía observamos todos los días en los animales de experimentación cuyos tiroides extirpamos: en ellos el efecto más constante — dice Biedl (1) — es el enflaquecimiento.

Pues bien; si en estos casos de hipotiroidismo gravísimo ó de atiroidismo (cretinismo profundo, caquexia estumipriva, tiroidectomía experimental), administramos el extracto de tiroides, la caquexia se corregirá y el organismo aumentará de peso.

3.º Pero en la mayoría de los casos *el efecto de la opoterapia tiroidea consiste en una estimulación general de las actividades orgánicas, que se traduce por fenómenos de asimilación más intensa, y, por tanto, de incremento de peso*, mientras las dosis no rebasen de ciertos límites. Este efecto estimulante de la asimilación del jugo tiroideo es tan constante, que seguramente no poseemos otro medio más eficaz para provocar el aumento de peso que la tiroidina bien manejada. Si las dosis aumentan, llega un punto en que predominan los fenómenos de desasimilación y se produce, naturalmente, el efecto contrario: el adelgazamiento.

Es lógico suponer que todas estas variaciones del peso, que nosotros podemos provocar por la opoterapia tiroidea, sean reproducción de procesos fisiológicos, correspondientes á las variaciones espontáneas de la actividad de la glándula tiroidea.

La acción estimulante de la tiroidina se manifiesta á veces por un fenómeno bien visible, *el aumento del apetito*, por cuyo mecanismo *externo*, por decirlo así, se produce entonces el aumento del peso. Levi y Rothschild han descrito (2) esta acción despertadora del apetito de la opoterapia tiroidea con el nombre de *función oregógena del tiroides;* á veces se convierte en verdadera voracidad.

Sin embargo, no siempre existe el aumento de apetito en la intensidad suficiente para explicar el aumento del peso; entonces el peso sube por una acción general de activación de la nutrición, lo mismo en sujetos sanos que en los afectos de distintas enfermedades, como hemos podido comprobar, en la clínica, en multitud de casos.

Experimentalmente hemos podido reproducir esta propiedad de la substancia tiroidea *de producir aumento del peso*, cuando las dosis no

(1) *Biedl:* Innere de Sekretion-2-Auf. Wien, 1913.

(2) *Levi y Rothschild:* Études sur la physiopathologie du corps tyroide. 1 serie, 1908.

rebasan de ciertos límites, sustituyéndose el engrosamiento por el adelgazamiento cuando la dosis se hace mayor.

En las experiencias del cuadro que copiamos á continuación, nos servimos de cobayos muy jóvenes, inyectándolos con extracto tiroideo glicerinado:

	Peso antes del tratamiento.	Peso después de un mes de tratamiento.	AUMENTO
I. Testigo........................	109 gramos.	168 gramos.	59 gramos.
II. Inyección diaria de 1/2 cent. cúb. de tiroidina....................	124 —	178 —	54 —
III. Inyección diaria de 1/4 cent. cúb. de tiroidina....................	115 —	186 —	71 —

Se ve en el cuadro expuesto que el animal inyectado con una dosis muy pequeña de tiroidina, engordó más que el testigo. El inyectado con una dosis algo mayor (1/2 cent.), aunque tampoco excesiva, aumentó también de peso, porque el movimiento natural del organismo era más fuerte que la tiroidina; pero el aumento fué menor que en el animal testigo.

Más interesantes son las experiencias siguientes, para las que nos hemos valido de conejos comunes de la misma edad:

	Aumento de peso á los ocho días de tratamiento.	Aumento de peso después de otros ocho días.		Variación de peso á los cuatro días de tratamiento.	Aumento de peso después de catorce días de tratamiento.
I. Tiroidización lenta y castración.......	78 gr.	136 gr.	A partir de esta fecha, se aumenta considerablemente la dosis de tiroidina en las mismas proporciones para cada grupo.	23 gr. menos.	25 gr.
II. Tiroidización lenta..	82 gr.	160 gr.		20 gr. más.	214 gr.
III. Testigo............	111 gr.	133 gr.		74 gr. más.	179 gr.
IV. Tiroidización rápida y castración......	28 gr.	39 gr.		51 gr. menos.	149 gr.
V. Tiroidización rápida.	38 gr.	88 gr.		35 gr. menos.	162 gr.

Del estudio de este cuadro se deduce lo siguiente:

Al principio hicimos uso de un extracto glicerinado de tiroides de un

enfermo de Basedow, recogido apenas extirpado (gracias á la amabilidad del Dr. Goyanes), y preparado cuidadosamente por nosotros, según el método de Arsonval. Inyectamos á los animales I y II, $^1/_4$ de centímetro cúbico de extracto diariamente. A los animales IV y V, un centímetro cúbico diario. Ahora bien, se observa que *durante los primeros ocho días del tratamiento, todos los conejos tratados aumentaron de peso menos que el testigo;* pero los dos tratados con más intensidad (IV y V) aumentaron, como era de esperar, menos que los hipertiroidizados lentamente (I y II).

Continuado el tratamiento en las mismas condiciones otros ocho días el organismo se habitúa, el valor activo de cada dosis es menor, y entonces vemos que *los dos conejos tratados con poca tiroidina aumentan más que el testigo;* los dos tratados con mucha tiroidina aumentan menos que el testigo.

A partir de esta fecha se cambia la técnica del tratamiento. En lugar de nuestro preparado de extracto de bocio, hacemos uso de las pastillas de tiroidina Parke Davis, administradas en ingestión (el conejo come espontáneamente cuantas pastillas se le presentan). A los conejos I y II les administramos una ó dos pastillas diarias; á los conejos IV y V, cuatro ú ocho pastillas diarias. De esta manera prosigue la tiroidización lenta de los primeros y rápida de los segundos, pero aumentando mucho cada dosis con respecto á las del extracto de bocio.

Los resultados observados en esta segunda época de la experiencia, son enteramente paralelos á los anteriores. *En los primeros cuatro días, los cuatro conejos tratados aumentan menos que el testigo;* en algunos, no sólo no hay aumento pequeño, sino que hay disminución de peso. De todos modos, la pérdida, como es natural, es mayor en el par sometido á las dosis fuertes (IV y V).

Perseverando en el tratamiento, volvemos á observar la habituación del organismo ante la dosis invariable, la menor potencialidad de ésta, y, como antes, se presenta otra vez el fenómeno de que *los conejos de la dosis pequeña aumentan de peso bastante más que el testigo, mientras que los de las dosis grandes aumentan menos que el testigo.*

En resumen: *a*) Las dosis débiles de tiroidina provocan aumento de peso superior al normal en la época del crecimiento, así como las dosis fuertes hacen ese aumento subnormal y aun truecan el aumento en pérdida.

b) La perseveración en las mismas dosis determina (por lo menos desde este punto de vista) una acostumbración del organismo, haciéndose más débiles los efectos de la dosis.

Se comprende la importancia práctica de estos datos experimentales,

pues ellos nos enseñan la utilidad de emplear la tiroidina á pequeñas dosis en los sujetos cuyo crecimiento se verifica de un modo tórpido, y verdaderamente, como antes decíamos, ningún estimulante de la vegetación del organismo se puede comparar á éste, cuando se maneja bien.

Por otra parte, los hechos referidos nos indican la necesidad de aumentar prudencialmente las dosis de tiroidina cuando la empleamos con el objeto de hacer enflaquecer á sujetos obesos, pues la habituación del organismo puede hacer inactiva y aun perjudicial, en este sentido del adelgazamiento, á una misma dosis muy continuada.

En la práctica, en efecto, vemos confirmados estos datos experimentales, como en el caso siguiente:

Un señor de treinta y tres años, obeso, por herencia, desde niño. Aspecto linfático. Sin signos de hipotiroidismo. Ligera taquicardia. Muy nervioso. Neurasténico. En la actualidad pesa 130 kilogramos. No ha logrado adelgazar por ningún medio.

La tiroidina á la dosis de dos tabletas Merck diarias le hacen perder un kilogramo en la primera semana del tratamiento. Al cabo de dos semanas y media más de seguir la medicación á la misma dosis no sólo no ha seguido disminuyendo, sino que ha aumentado 2'5 kilogramos, en vista de lo cual suspende el tratamiento.

* * *

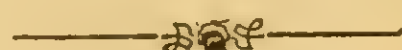
De las experiencias referidas se desprende otro hecho interesantísimo, por lo que le haremos notar, aunque se refiera á otro aspecto del problema. Y es que, *tanto en los animales hipertiroidizados lentamente, como en los sometidos á las dosis de tiroidina fuertes, cuando se ha hecho además la castración, la pérdida es mayor; ó en otros términos, los conejos castrados sufren con más intensidad la acción desgrasante de la tiroidina.* Sólo hace excepción á esta regla la última cifra anotada en el conejo núm. I (258 gr. de aumento, mientras que el núm. II, no castrado, aumentó sólo 214 gr.).

Este notable fenómeno confirma la idea, en la que nosotros nos afirmamos más cada día, de que el hipertiroidismo se desenvuelve mucho mejor en un terreno de hipogenitalismo. Para no citar más que un dato, recuérdese la frecuencia con que el mal de Basedow aparece en la menopausia, en cuya edad crítica (que también existe en el hombre) es muy frecuente que se basedowifiquen los bocios hasta entonces simples. Recuérdese también la frecuencia de las perturbaciones genitales—en sentido hipofuncional (amenorrea, impotencia)—de los basedowianos jóvenes. Todo esto, unido al dato experimental expuesto, acentúa la sospecha de

que el complicado morbo de Basedow sea uno más entre los síndromes pluriglandulares.

Pero de todo esto nos ocuparemos con más detenimiento en otra comunicación.

(Laboratorio de Medicina Legal de la Universidad de Madrid. Director: Dr. MAESTRE).



Contribución al estudio de la formación del ácido diacético en el hígado

POR

P. VARILLAS



Hasta hace poco era desconocido el punto del organismo en que se pudieran formar los cuerpos acetónicos (ácidos β oxibutírico, diacético y acetona).

G. Embden ha observado que el hígado aislado del perro forma siempre una cierta cantidad de ácido diacético y acetona durante las experiencias de circulación artificial á través de este órgano con sangre desfibrinada. La cantidad formada en una hora oscila de 12 á 27 miligramos por litro, referida á acetona, sin que pase de esta cifra en numerosas experiencias. Ciertas substancias añadidas á la sangre, aumentan al circular por el hígado la producción de estos cuerpos, admitiéndose, al menos, con mucha probabilidad, una transformación en ácido diacético y acetona; otras no tienen influjo en este sentido, y hay otras (cuerpos fácilmente oxidables) que detienen en parte su formación.

A partir de esto ha hecho Embden una serie sistemática de experiencias, y demostrado que en el hígado pueden sufrir esta transformación: en primer lugar, ciertos ácidos grasos, sobre todo el β oxibutírico y el N butírico. De los homólogos superiores á éste, sólo forman ácido diacético y acetona los que tienen un número par de átomos de carbono en la molécula y no los impares.

Hecho interesante que demuestra de un modo indirecto la importancia de la β oxidación en la combustión de ácidos grasos en el organismo, pues se podría admitir, como lo hace Knopp en experiencias de otro orden con ácidos grasos aromáticos, que por sucesivas β oxidaciones con partición de la molécula y desprendimiento de dos carbonos, fueran los homólogos superiores transformándose en los inferiores, y así se llegaría con los pares finalmente al N butírico, que por oxidación daría el dia-

cético por intermedio del β oxibutírico, mientras que los impares que, quemándose de este modo, no conducirían al N butírico, no formarían, por esta razón, acetona.

Al lado de otros ácidos grasos, cuya transformación se puede aclarar por mecanismos distintos, forman también estos cuerpos productos de desdoblamiento de las albúminas, leucina y de la serie aromática, la tirosina y fenilalanina.

Primero, creyó Embden, que el hígado podría formar acetona también sin intermedio del ácido diacético, y así aclaraba la transformación de la leucina, ácido isovaleriánico, etc., pero más adelante han trabajado Embden y Schliepp, un método que permite una determinación separada de estos dos cuerpos, y han visto que, si se analiza la sangre en seguida de hecha la circulación, casi toda la acetona se encuentra en forma de ácido diacético.

Esto mismo observan, aplicando el método á orinas muy recientes en diabéticos, admitiendo como muy probable que la acetona de la orina, ó al menos en su mayor parte, no sea un producto eliminado en tal estado por el riñón, sino en forma de ácido diacético, substancia poco estable que pasaría en la orina misma á acetona, opinión que ha sido aceptada, entre otros, por Magnus-Levi.

Es interesante que el hígado de perros hechos diabéticos por inyecciones de floridzina ó por extirpación total del páncreas, forme una cantidad mayor de estos cuerpos que el de perros sanos.

Por el contrario, no se forman estos cuerpos en circulaciones á través de otros órganos (riñón, pulmón y músculos), aun cuando se añadan á la sangre cuerpos que los producen en una cantidad relativamente grande en el hígado.

Ultimamente se ha visto que ciertos ácidos dicarbónicos, pueden sufrir también esta transformación (ácido sacárico, ácido tártrico, etc.).

En este sentido hemos hecho algunas observaciones con el ácido oxalacético.

Para obtener el cuerpo hemos empleado el método de Wohl y Oesterlin.

La técnica de las experiencias es la generalmente seguida: 6 gramos disueltos en agua y neutralizados con amoníaco, se añaden á la sangre.

Se emplea sangre desfibrinada de buey.

Se tiene á los perros veinticuatro horas antes sin darles alimentos y se les mata anestesiándolos ligeramente con éter, por sección de las femorales hasta desangrarlos. Se abren las cavidades torácica y abdominal, y se prepara el hígado según la técnica de Embden y Glaesner.

Cortando las inserciones laterales del diafragma, se rechaza el hígado

hacia arriba y el paquete intestinal á un lado, quedando al descubierto la vena porta, en la que se introduce una cánula de cristal; se ligan la arteria hepática y la cava, cortando por debajo de las ligaduras; se secciona el esófago entre dos ligaduras á nivel del cardias; se introduce otra cánula en la porción torácica de la cava; se completan las desinserciones del diafragma y se lleva el hígado al aparato de circulación artificial de Mandel, simplificado por Embden. Por medio de una bomba aspirante é impelente, movida por un electromotor, se hace pasar la sangre repetidas veces por el hígado, entrando por la porta y saliendo por la cava. La arterialización tiene lugar al atravesar un tubo grande de vidrio lleno de perlas de cristal, al que se dirige una corriente continua de oxígeno.

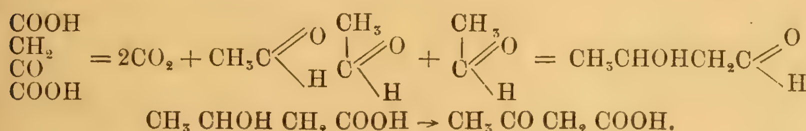
Transcurrida una hora se quita el hígado y en la sangre se precipitan las albúminas por el método de Schenck; se hace en el filtrado una determinación de la acetona total por el método de Messinger-Hupper; se hace antes de la circulación una determinación de la acetona en la sangre empleada y por diferencia se ve la formada durante la experiencia.

Los resultados pueden verse en la tabla siguiente:

NÚMERO....	PESO del perro. — *Kilogms.*	PESO del hígado — *Gramos.*	Cantidad de sangre. — *Cent. cúb.*	Duración de la experiencia. — *Minutos.*	SUBSTANCIA añadida.	CANTIDAD de acetona formada por litro. — *Miligramos.*	Cent. cúb de yodo $\frac{n}{10}$ gastados para el Masuda. Con óxido de plata.	Sin óxido de plata.	Observaciones
1	7'3	182	1.600	60	6 gramos de ácido oxalacético neutralizados con NH^3	118	28'3	28	3 litros del filtrado para el Masuda.
2	4'8	125	íd.	íd.	íd.	48	9	8'3	íd.
3	6'7	266	íd.	íd.	íd.	32	5'4	5'6	2 litros del filtrado.
4	11'5	275	íd.	íd.	íd.	71			
5	6'95	118	íd.	íd.	íd.	39	10'1	9'6	3 litros del filtrado.
6	6'2	241	íd.	íd.	íd.	45	10'9	10'3	íd.
7	6'2	266	íd.	52	Sin adición de substancia	20			

Como se ve, aumenta este ácido la producción normal de ácido diacético, si bien no en una proporción muy grande. Sería conveniente mayor número de experiencias antes de sentar resultados definitivos. Era

interesante el experimentar con este cuerpo. Recientemente, ha descubierto Neuberg una carboxilaxa en las levaduras que transforma muy fácilmente esta substancia en anhídrido carbónico y aldehído acético. La misma transformación experimenta el $CH_3.CO.COOH$. En una serie numerosa de circulaciones artificiales han visto Embden y Oppenheimer que este último cuerpo puede ser transformado en el hígado en ácido diacético. Aclaran la transformación admitiendo que en el hígado tenga lugar primeramente un desdoblamiento en CO_2 y $CH_3C\langle^{O}_{H}$. Por intermedio de este último se formaría el ácido diacético. Friedmann ha demostrado que esta última transformación es posible. Admite una condensación de dos moléculas de aldehído acético á aldol que por oxidación pasaría al ácido β oxibutírico y por intermedio de este último á ácido diacético. Esto mismo se podría pensar para el ácido oxalacético. La transformación marcharía entonces en la siguiente forma:



$$CH_3\,CHOH\,CH_2\,COOH \rightarrow CH_3\,CO\,CH_2\,COOH.$$

Hemos tratado de ver si al lado de acetona se forman aldehídos empleando un método de Masuda que permite determinar aproximadamente estos últimos al lado de la acetona en caso de existir juntos con un resultado negativo. Esto no excluiría, desde luego, la existencia del aldehído acético como intermedio, ya que esta substancia reacciona fácilmente y podría entrar en combinación con otras substancias en el hígado.

BIBLIOGRAFÍA

Hasta 1908 en Magnus Levi. Die Acetonkörper. Ergebnisse der inneren Medizin u. Kinderheilkunde. S. 325.

I. Wirth: Abbau von Kohlenhidratsaüren in der Leber. *Bioch. Zeitsch.*, 33, 49, 1911.

Ohta Koski: Ueber Acetessysäürebildung aus einige Dicarbonsäüren mit 4 C-Atomen. *Bioch. Zeitschr.* B. 45, S. 166, 1912.

A. Wohl y *Oesterlin:* Uberführung der Weinsäüre in Oxalessigsäüre durch Wasserabspaltung bei niederer Temperatur. *Ber d. Deutsch. Chem. Geschelschafft.*, 31, 1, 1.139.

Neuberg u. *S. Mitarbeiter:* Ueber ruckerfrei Häfegärug. *Bioch. Zeitschr.*, 31, 174, 1910; 32, 323, 1911 y siguientes.

G. Emben und Oppenheimer: Abbau der Brenztraubensäure in der Leber. Arbeiten aus dem städlischen. Chem. physiolog. Institut zu Frankfurt a/M. S. 186, 1912.

Masuda: Ueber das Auftreten aldelydartiger Substanzen bei Leberdurchblutung. Ebenda, S. 140.

Contribución al estudio de la revelación de huellas digitales invisibles

POR

A. CORTEZO Y COLLANTES

Dedicamos esta nota experimental á referir los resultados que hemos obtenido en la aplicación de distintos reactivos sólidos, líquidos y gaseosos en la revelación de huellas que asientan sobre distintos soportes, trabajos que hemos llevado á cabo en el Laboratorio de Medicina legal de la Universidad de Madrid, bajo la dirección del profesor Maestre.

Distintos autores han propuesto, por ejemplo, varios reactivos pulverulentos para la revelación de huellas sobre el papel; pero los resultados que se obtienen con una misma substancia reveladora son muy distintos según la calidad del papel, y los autores no han fijado mucho su atención sobre este particular.

Nuestros experimentos demuestran que una materia reveladora, como el óxido de cobre, no dando resultado ninguno en las huellas que asientan sobre el papel satinado, son ya mucho mejores en papel de peor calidad. Esta observación la podemos hacer más afirmativa si ensayamos el peróxido de plomo, mala substancia reveladora en papel satinado y excelente en papel de calidad inferior.

Nosotros hacemos resaltar estas diferencias en el cuadro adjunto.

De los repetidos ensayos que hemos realizado, resulta una conclusión importante referente al proceso íntimo de la revelación de las huellas. Los autores hablan de reactivos que revelan las huellas por adherencia mecánica y de reactivos que revelan las huellas por afinidad química á la grasa que constituye la impresión, y se ha insistido sobre las ventajas que presentan estos últimos reactivos. Pues bien; de nuestros ensayos resulta que casi todos los reactivos obran por adherencia mecánica y que precisamente polvos inertes pero muy pesados, como sucede con el negro de platino y el hierro metálico, permiten una revelación perfecta.

Varios de los reactivos que nosotros hemos consignado en el cuadro adjunto han sido propuestos por otros autores y otros somos nosotros los primeros en ensayarlos.

Nuestros ensayos prueban también que algunos de los reactivos ya propuestos no habría interés en conservarlos; por ejemplo, los que figuran siempre en las tres últimas partes del cuadro.

Hemos hecho también algunos ensayos de revelación de huellas invisibles sobre soportes negros de cristal, mármol, etc.; en ellos hemos obte-

nido los mejores resultados con el blanco de zinc, el sulfato de barita, la cerusa y el óxido de antimonio.

Hemos hecho también ensayos de revelación de huellas recientes y antiguas sobre el papel, sirviéndonos del método á la tinta propuesto antiguamente por Forgeot, y como siempre, hemos utilizado papeles de distinta calidad. Los mejores resultados los hemos obtenido con las tintas Pelikan 2.001, Pelikan 4.001 y Pelikan 5.001. Hemos ensayado también la tinta Faber Blen noir y revela las huellas. Los resultados algo utilizables en esta revelación de las huellas por la tinta se obtienen cuando las huellas asientan sobre papel satinado, y mejor que coloreadas se puede decir que la tinta tiñe el soporte, apareciendo los dibujos papilares en blanco.

Finalmente, por los experimentos que hemos realizado debemos declarar que no hemos obtenido con los reactivos gaseosos resultados tan favorables como los conseguidos por otros autores.

Cuadro resumen de los resultados obtenidos con diferentes reactivos aplicados á la revelación de huellas invisibles sobre el papel.

PAPEL SATINADO	PAPEL CORRIENTE	PAPEL GROSERO (PERIÓDICO)
1 Platino.	1 Platino.	1 Platino.
2 Hierro metálico.	2 Hierro metálico.	2 Hierro metálico.
3 Sulfuro de plomo.	3 Bióxido de manganeso.	3 Bióxido de manganeso.
4 Oxido de cobalto.	4 Peróxido de plomo.	4 Peróxido de plomo.
5 Tierra negra.	5 Oxido de cobre.	5 Oxido de cobre.
6 Plombagina.	6 Plombagina.	6 Plombagina.
7 Bióxido de manganeso.	7 Tierra negra.	7 Tierra negra.
8 Yodoeosina.	8 Oxido rojo de mercurio.	8 Oxido de cobalto.
9 Rojo Scharlach.	9 Sulfuro de plomo.	9 Sulfuro de plomo.
10 Fluoresceina.	10 Oxido de cobalto.	10 Oxido rojo de mercurio.
11 Rojo Soudan III.	11 Yodoeosina.	11 Yodoeosina.
12 Serubra viejo.	12 Rojo Scharlach.	12 Rojo Scharlach.
13 Rojo Victoria.	13 Fluoresceina.	13 Fluoresceina.
14 Tierra Casrel.	14 Rojo Soudan III.	14 Rojo Soudan III.
15 Carmín tabla.	15 Serubra viejo.	15 Serubra viejo.
16 Bermellón puro.	16 Rojo Victoria.	16 Rojo Victoria.
17 Oxido de plomo.	17 Tierra Casrel.	17 Tierra Casrel.
18 Bermellón Winkar.	18 Carmín tabla.	18 Carmín tabla.
19 Oxido de cobre.	19 Bermellón puro.	19 Bermellón puro.
20 Rojo inglés.	20 Rojo inglés.	20 Bermellón Winkar.
21 Oxido rojo de mercurio.	21 Minio.	21 Minio.
22 Peróxido de plomo.	22 Oxido de plomo.	22 Rojo inglés.
23 Minio.	23 Bermellón Winkar.	23 Oxido de plomo.

Curación de la tuberculosis experimental del cobaya por la bacterioterapia específica

POR

P. MAYORAL

La presente comunicación tiene por objeto dejar consignados algunos importantes hechos experimentales. No se trata de un trabajo acabado; es un avance que creemos conveniente publicar, pues por referirse á la tuberculosis, enfermedad de evolución lenta, ha de transcurrir algunos meses antes de que sea posible presentar un trabajo completo, y siendo la tuberculosis sujeto de estudio de muchos investigadores, pudiera ocurrir que, durante dicho plazo, aparecieran publicaciones en las que se describieran hechos semejantes á los observados por nosotros, y les privaran de su originalidad.

La tuberculosis experimental del cobaya, provocada por la inoculación subcutánea de productos tuberculosos es, por la seguridad con que se produce y la constancia de las etapas que recorre la enfermedad, para terminar fatalmente con la vida del animal en plazo que nunca excede de tres meses, no sólo el procedimiento exacto para descubrir la presencia del virus tuberculoso, sino también el mejor, por ser el más riguroso campo de experimentación para los métodos profilácticos y terapéuticos contra la tuberculosis. Cualquier método que sea capaz de prevenir ó curar la tuberculosis experimental del cobaya, debe reputarse, pensando lógicamente, como provisto de real y poderosa eficacia.

Los estudios de quimioterapia de la tuberculosis con los compuestos de cobre que realizamos hace año y medio, y que fueron expuestos en una de las sesiones de la Liga popular contra la tuberculosis, en Octubre de 1912, demostraron plenamente la anterior afirmación; el fracaso de este tratamiento en la tuberculosis del cobaya, nos permitió pronosticar su inutilidad en la tuberculosis del hombre, cuando eminentes clínicos que lo estaban experimentando tenían de su eficacia una favorable impresión.

* * *

Nuestros estudios de bacterioterapia específica de la tuberculosis se han hecho con una mezcla de cultivos puros en medio líquido, homogéneos, de tres variedades de bacilo Koch humano, aisladas por nosotros de los esputos, siguiendo el procedimiento clásico.

Estos cultivos, después de un mes de desarrollo en la estufa á 37°, fueron tratados por el cloroformo en la proporción de 0'75 cent. cúb. por

100, y diez días después, por el fenol al 0'5 cent. cúb. por 100 y el calor á 55° durante una hora. De este modo preparamos la *vacuna tuberculosa viva*, pues sembrando 1 cent. cúb. de ella en un matraz de caldo glicerinado, se obtiene el desarrollo del bacilo de Koch.

Hemos preparado también una *vacuna tuberculosa muerta*, con sólo repetir en tres días sucesivos la expresada acción térmica sobre la *vacuna tuberculosa viva*.

El hecho de no destruirse la vitalidad del bacilo de Koch por la acción de los citados antisépticos y el calor á 55° durante una hora, es una prueba á favor de la existencia de esporas de esta especie microbiana, asunto del que, bajo distinto punto de vista, nos hemos ocupado en otro trabajo.

Tanto la vacuna *tuberculosa viva* como la *muerta*, examinadas al microscopio, previa tinción por el método de Ziehl, se ve que contienen numerosísimos bacilos de Koch típicos, perfectamente teñidos, aislados unos de otros en individuos ó pequeños montones.

Estas *vacunas*, sometidas á la acción aglutinante del suero de personas sanas, dan abundante precipitado en forma de copos con diluciones de suero superiores al 1 por 250.

Experimentos realizados.

Cobayas núms. 1 y 2.—El día 5 de Julio de 1913, se introduce en el tejido celular subcutáneo de las paredes abdominales, un asa de cultivo sólido, desarrollado en la patata, de dos variedades de bacilo de Koch, empleadas en la preparación de la *vacuna tuberculosa*.

Día 10 de Octubre de 1913. Se inyecta en el tejido celular subcutáneo del abdomen 0'5 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa viva*. Nada anormal se observa en los animales.

Día 13 de Octubre de 1913. Se matan los cobayas intoxicándoles con éter, y la autopsia demuestra la existencia de muchos tubérculos en el peritoneo é hígado.

Cobayas núms. 3 y 4.—Están sanos; el día 10 de Octubre de 1913, se les inyecta 0'5 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa viva* en el tejido celular subcutáneo. Día 18 de Octubre, se les inyecta 1 cent. cúb. de v. t. v. Día 23 de Octubre, inyección de 1'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 31 de Octubre, inyección de 2 cent. cúb. de v. t. v.

En los sitios en que se ha inyectado la v. t. v. se observan unos nódulos de tamaño variable, pero que nunca exceden del de un garbanzo. El día 6 de Noviembre de 1913, se sacrifica el núm. 3, y se observa que en los nódulos existe pus caseoso, en el que el examen microscópico de-

muestra la existencia del bacilo de Koch; las vísceras están normales.

El cobaya núm. 4 está actualmente vivo, y los nódulos se han reabsorbido. (Día 19 de Marzo de 1914).

Cobayas núms. 5 y 6.—El día 15 de Agosto de 1913, se inoculan en el tejido celular subcutáneo de las paredes abdominales, con un fragmento de esputo que contiene bacilo de Koch.

Día 10 de Octubre de 1913. En el sitio de la inoculación existe una llaga con pus caseoso, en el que el examen microscópico demuestra la presencia del bacilo de Koch; los ganglios inguinales están tumefactos, y los animales están flacos. En el tejido celular subcutáneo se les inyecta 0'5 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa viva.* Día 18 de Octubre, inyección de 1 cent. cúb. de v. t. v. Día 23 de Octubre, inyección de 1'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 31 de Octubre, inyección de 2 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 10 de Noviembre, inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v.

Día 15 de Noviembre. Muere el cobaya núm. 5. La autopsia demuestra la existencia de abscesos subcutáneos correspondientes á los sitios de inyección de la v. t. v., y una tuberculosis visceral generalizada.

Día 17 de Noviembre. Al cobaya núm. 6 se inyecta 0'5 cent. cúb. de v. t. v. en el subcutáneo. Día 26 de Noviembre, inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 2 de Diciembre, inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 10 de Diciembre, inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 16 de Diciembre, inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v.

Día 5 de Enero de 1914. El cobaya presenta excelente aspecto general; bien nutrido y con el pelo limpio y brillante. La llaga que tenía en el sitio de inoculación ha cicatrizado; un ganglio inguinal está tumefacto. Tiene dos cicatrices correspondientes á antiguas úlceras producidas por las inyecciones del v. t. v. y una úlcera de igual clase de la que por presión sale pus que contiene bacilo de Koch.

Cobayas núms. 7 y 8.—El día 15 de Agosto de 1913, se inoculan en el tejido celular subcutáneo del muslo, con una porción de esputo que contiene bacilo de Koch.

Día 15 de Octubre de 1913. En el sitio de inoculación existe una úlcera, y los ganglios inguinales están tumefactos; los animales están flacos, y en el pus de la úlcera se encuentra el bacilo de Koch. Se inyecta en el tejido celular subcutáneo 2 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa viva.* Día 25 de Octubre, inyección de 4 cent. cúb. de v. t. v. Día 31 de Octubre, inyección de 6 cent. cúb. de v. t. v.

Día 3 de Noviembre de 1913. Muere el núm. 7. La autopsia demuestra la existencia de abscesos subcutáneos, correspondiendo con los sitios de

inyección de la v. t. v.; se encuentran muchos tubérculos en el bazo, hígado y pulmón, y una pleuresía con derrame.

Día 8 de Noviembre. Inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. al cobaya número 8. Día 17 de Noviembre, inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 26 de Noviembre, inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 2 de Diciembre, inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 10 de Diciembre, inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 16 de Diciembre, inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v.

Día 26 de Diciembre de 1913. Muere el cobaya núm. 8. La autopsia demuestra lo siguiente: dos ulceraciones en la región inguinal; una corresponde á un ganglio supurado y otra á uno de los sitios de inyección de la v. t. v. Dos abscesos de la pared abdominal, correspondiendo á sitios de la inyección v. t. v. En el pus de los abscesos y úlceras se encuentran numerosos bacilos de Koch, *incluídos en los leucocitos.*

Los ganglios linfáticos, lumbares, axilares y mediastínicos están tumefactos; los últimos sueldan el corazón y grandes vasos á la pared esternal. No hay tubérculos en los pulmones; en el bazo y lóbulo izquierdo del hígado se notan algunas pequeñas manchas blanquecinas, que parecen tubérculos, pero en los frotes hechos con ellas no se encontró el bacilo de Koch.

Cobayas núms. 8, 10 y 11. — El día 15 de Agosto se inoculan con una porción de esputo, que contiene bacilo de Koch, en el tejido celular subcutáneo de la pared abdominal.

Día 15 de Octubre de 1913. Existe úlcera en los sitios de inoculación, tumefacción de los ganglios inguinales y enflaquecimiento. En el tejido celular subcutáneo de la pared abdominal se inyecta 1 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa viva.*

Día 25 de Octubre. Inyeccción de 2 cent. cúb. de v. t. v. Día 31 de Octubre. Inyección de 4 cent. cúb. de v. t. v. Día 9 de Noviembre. Inyección de 0'5 cent. cúb. de v. t. v. Día 17 de Noviembre. Inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 2 de Diciembre. Inyección de 0'5 centímetros. cúbicos. de v. t. v. Día 10 de Diciembre. Inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v. Día 16 de Diciembre. Inyección de 0'5 centímetros cúbicos de v. t. v.

Día 19 de Diciembre de 1913. Muere el cobaya núm. 9. La autopsia demuestra lo siguiente: el animal no está demacrado y la úlcera correspondiente al sitio de inoculación está casi cicatrizada; en el tejido celular subcutáneo de las paredes abdominales y, correspondiendo á sitios de inyección de la v. t. v., hay dos abscesos en cuyo pus el examen por el Ziehl demuestra la existencia de enorme cantidad de bacilos de Koch, pero todos ellos incluídos en el interior de los leucocitos. Se encuentran

puntos en los que la piel y los músculos de las paredes abdominales están soldados, no pueden despegarse los dos planos anatómicos por impedirlo un tejido cicatricial.

Los ganglios linfáticos inguinales están normales y no se encuentran tubérculos en los pulmones, bazo é hígado. Unicamente están aumentados de volumen dos ó tres ganglios lumbares que, seccionados, no contienen pus; en los frotes hechos con la superficie de sección de estos ganglios, se encuentran algunos bacilos de Koch incluídos en los leucocitos.

Día 5 de Enero de 1914. Los cobayas núms. 10 y 11 presentan excelente aspecto, bien nutridos y con el pelo limpio y brillante. El núm. 10 tiene cicatrizada la úlcera correspondiente al punto en que se inoculó el esputo; un ganglio inguinal del tamaño de un guisante y tres cicatrices correspondientes á sitios en que se inyectó la v. t. v.

El cobaya núm. 11 tiene tambien cicatrizada la úlcera correspondiente al sitio de inoculación del esputo; un ganglio inguinal tumefacto y cuatro cicatrices correspondientes á sitios de inyección de la v. t. v. y á una adenitis inguinal supurada, que se abrió espontáneamente.

El día 19 de Marzo de 1914 estos animales presentan excelente aspecto, pero en los dos se nota la existencia de un ganglio inguinal tumefacto, del tamaño de un guisante.

Cobayas núms. 12 y 13.—El día 15 de Agosto de 1913 se inoculan en el tejido celular subcutáneo de la pared abdominal, con una porción de esputo que contiene el bacilo de Koch.

El día 15 de Octubre de 1913, en los sitios de inoculación, hay una úlcera en cuyo pus se encontró el bacilo de Koch. Los ganglios inguinales están tumefactos y los animales presentan notable enflaquecimiento.

Día 5 de Noviembre. Muere el núm. 12. Día 17 de Noviembre. Muere el núm. 13. La autopsia demuestra iguales lesiones en ambos animales. La úlcera de la inoculación no ha cicatrizado. Los ganglios inguinales y lumbares están caseosos, y el bazo, hígado y pulmones aparecen repletos de tubérculos.

Cobaya núm. 14.—El día 17 de Noviembre do 1913 se le inyecta en el tejido celular subcutáneo de la parte alta del muslo el depósito de centrifugación de 10 cent. cúb. de orina sospechosa de contener bacilo de Koch.

Día 4 de Diciembre. En el sitio de inoculación se ha formado un abceso que se abre espontáneamente, y en cuyo pus se encuentra bacilo de Koch. El día 13 de Diciembre, la abertura de abceso se ha ensanchado y queda una extensa ulceración; los ganglios inguinales están aumentados de volumen; el animal pesa 510 gramos.

Día 1.° de Enero de 1914. El animal pesa 450 gramos.

Día 2 de Enero. Durante la noche, que ha sido muy fría, y coincidien-

do con elevada mortalidad en los cobayas que ocupan otras jaulas, ha muerto.

Autopsia.—Extensa úlcera en el sitio de inoculación; se encuentran dos voluminosos ganglios inguinales, uno del tamaño de un garbanzo y otro del de un guisante. Un ganglio lumbar está aumentado de volumen y caseoso. En el bazo se observan numerosas y pequeñas granulaciones grises, en las que el examen microscópico no demuestra la presencia del bacilo de Koch.

Cobayas núms. 15 y 16.—El día 17 de Noviembre de 1913, se inyecta al núm. 15 en el tejido celular subcutáneo de la parte alta del muslo el depósito de centrifugación de 20 cent. cúb. de orina sospechosa de contener bacilo de Koch.

Día 4 de Diciembre. En el núm. 15 y en el sitio de inoculación se ha formado un voluminoso abceso que se abre sólo, y en cuyo pus se encuentra el bacilo de Koch. El día 13 de Diciembre el abceso se ha transformado en extensa úlcera; los ganglios inguinales están aumentados de volumen; el animal pesa 305 gramos. El cobaya núm. 16 está sano y pesa 650 gramos.

El mismo día 13 se inyecta á los dos cobayas en el tejido celular subcutáneo del abdomen 0'1 cent. cúb. de *vacuna tuberculosa muerta*, diluída en 0'9 cent. cúb. de caldo de cultivo. Día 18 de Diciembre, se inyecta 0'2 cent. cúb. de v. t. m. diluída en 0'8 de caldo, en el tejido celular subcutáneo. Día 23 de Diciembre, se inyecta 0'4 cent. cúb. de v. t. m. diluída en 0'6 cent. cúb. de caldo. Día 28 de Diciembre, se inyecta 0'8 centímetros cúbicos de v. t. m. diluída con 0'7 cent. cúb. de caldo.

Día 1.° de Enero de 1914. El núm. 15 pesa 260 gramos y el núm. 16 pesa 500 gramos. No tiene induraciones en los sitios en que se inyectó el v. t. m.

Día 2 de Enero. Durante la noche y debido seguramente al frío, mueren los dos animales.

Autopsia.—El cobaya núm. 15 presenta cicatrizada superficialmente la úlcera de inoculación, pero una incisión perpendicular á la superficie de la piel, demuestra que debajo de la cicatriz hay un pequeñísimo abceso con pus cremoso. Un ganglio inguinal está aumentado de volumen y tiene el tamaño de una lenteja. Existe otro igual, lumbar. En el bazo se observan algunas pequeñas granulaciones grises, en las que el examen microscópico no permitió descubrir el bacilo de Koch.

El cobaya núm. 16 no presenta ninguna lesión ganglionar ni visceral y el tejido celular subcutáneo de las paredes abdominales está normal.

* * *

Después de relatar los resultados de nuestros experimentos, y antes de exponer las conclusiones provisionales que de ellos deducimos, no estará demás reproducir lo que los tratados clásicos de bacteriología dicen de la tuberculosis experimental del cobaya.

Kolle y Hetsch. — «El punto de inoculación se ulcera siempre. El animal disminuye de peso y sucumbe cuatro ó seis semanas después de la inoculación subcutánea. Cuando la inoculación se hace en la cámara anterior del ojo, el animal tarda en morir tres ó cuatro meses».

Courmont. — «La invasión en la inoculación subcutánea se hace por vía linfática; en el punto de inoculación se forma una úlcera que no se cierra. La muerte sobreviene al cabo de dos meses; en general, rara vez más tarde».

Macé. — «La inoculación de productos tuberculosos determina fatalmente la evolución de una tuberculosis que mata en un plazo variable de dos semanas á dos ó tres meses».

J. Much. — «En los experimentos que se practican en los animales, la la tuberculina fracasa por completo cuando se la emplea como agente terapéutico».

En vez de examinar una por una nuestras observaciones, haciendo los comentarios que lógicamente de ellas se deducen, preferimos abreviar, y suprimiendo los razonamientos que á los hechos las encadenan, presentar las siguieutes conclusiones provisionales:

Primera.—El bacilo de Koch tiene formas de resistencia que le permiten reproducirse después de sufrir acciones antisépticas suficientes para destruir los gérmenes no provistos de esporas. El bacilo de Koch es una especie capaz de formar esporas que, á juicio nuestro, son los gránulos que se tiñen por el procedimiento de Much y por el de Ziehl, modificado por nosotros. Esta modificación consiste en tratar durante cinco minutos, con el líquido de Lugol, las preparaciones teñidas con la fuchina, antes de decolorarlas con el ácido nítrico al 1/3 ó al 1/4 y el alcohol absoluto.

Segunda.—La *vacuna tuberculosa viva y la muerta* carecen de toxicidad para el cobaya tuberculoso; este hecho establece profunda separación entre los productos preparados por nosotros y las tuberculinas conocidas hasta el día.

Tercera.—La v. t. v. produce abcesos en los sitios en que se inyecta, abcesos que se curan solos, y no sólo no se tuberculiza el animal, sino que provoca en él una inmunidad utilizable en terapéutica. La v. t. m. se toleró perfectamente en dos cobayas; no produjo abcesos en los sitios en que se inyectó.

Cuarta.—De siete cobayas (núms. 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11) tratados con la v. t. v., cinco sobrevivieron más de un mes á los testigos no tratados

(números 12 y 13). Tres, viven en el momento de escribir este trabajo, y de los dos que han muerto, uno de ellos (núm. 9) estaba curado, pues no tenía tubérculos en ganglios y vísceras, y el otro (núm. 8) se encontraba en estado relativamente satisfactorio: tenía tuberculosis ganglionar y algunos tubérculos en el bazo y el hígado, pero no en los pulmones.

Quinta.—La v. t. m. á dosis débiles ha producido notable mejoría del estado de las lesiones de inoculación del cobaya (núm. 15), á pesar de ser de menor talla que el testigo y haberse inoculado con doble cantidad de material tuberculoso.

Creemos que los resultados alcanzados por nosotros en el tratamiento de la tuberculosis del cobaya no han sido superados por ningún investigador; esto nos obliga á continuar nuestros estudios, con la esperanza de poder publicar pronto un trabajo completo que nos autorice para ensayar nuestro método en el tratamiento de la tuberculosis humana.

En la realización de estos estudios ha colaborado el Dr. Ramón Lobo, Profesor de la Sección de Bacteriología del Laboratorio Municipal, y al Director del mismo, Dr. C. Chicote, agradecemos que nos haya proporcionado cuantos medios hemos necesitado para realizar nuestros trabajos.

(Trabajo de la Sección de Bacteriología del Laboratorio Municipal de Madrid).



SESIÓN DEL 26 DE FEBRERO DE 1914

Nuevos estudios sobre la histopatología de la parálisis general con el método al cloruro de oro y sublimado de Cajal

POR

N. ACHÚCARRO Y M. GAYARRE

Nuestras investigaciones se refieren, principalmente, á las alteraciones de la neuroglia en la corteza cerebral.

Ya la observación de las preparaciones de la corteza cerebral humana, presentadas en esta Sociedad por Cajal en una sesión reciente, mostrando la neuroglia protoplásmica teñida en una extensión y con una definición no conseguidas hasta entonces, nos hicieron presumir la importancia del nuevo método del maestro para el estudio de las alteraciones de la corteza en las enfermedades mentales.

Hemos estudiado desde entonces, con el método del cloruro de oro y el sublimado, varios casos de enfermedades cerebrales: parálisis general, demencia senil, meningitis, delirium tremens, epilepsia.

Aquí nos referimos, especialmente, á nuestros hallazgos en la parálisis general. Hemos preparado dos casos del Manicomio de Cienpozuelos, utilizando la fijación con formol y bromuro de amonio recomendada por Cajal, fijación que permite el empleo de otros métodos y que es particularmente favorable para el método del tanino y la plata amoniacal. El resto del método se ha hecho igualmente de acuerdo con las prescripciones de Cajal, y los resultados pueden calificarse de constantes y excelentes.

Como es sabido, desde las investigaciones de Nissl y Alzheimer, la neuroglia de la corteza cerebral sufre grandes alteraciones en la parálisis general; las células proliferan, se hipertrofian notablemente, formando corpúsculos gigantescos «Monsterzellen», y producen abundantes fibras que refuerzan considerablemente las superficies libres, así como las que revisten á los vasos. Según Kolmer, existe también una zona de preferente hipertrofia en las regiones corticales, vecinas ya de la substancia blanca. Según las investigaciones de Alzheimer, comprobadas más tarde, se ven también entre las células satélites de las nerviosas algunas que abrazan y se adaptan á las primeras, envolviéndolas con sus prolongaciones. Más tarde, las investigaciones del mismo Alzheimer señalaron en la parálisis general, como en otros procesos, la presencia de las células amiboides de que también hablaremos Aunque la naturaleza de las Stäbchenzellen ha sido y es discutida, cabe considerar á estas células también en este punto, dado que el origen neuróglico ha sido defendido por varios autores.

La comprobación de los hechos y elementos histológicos mencionados no es difícil, ni para ello hay que apelar á métodos nuevos, pero el método de Cajal nos muestra muchas de estas alteraciones en otro aspecto y nos permite tomar una posición en problemas litigiosos referentes á la génesis de ciertas células.

Recordaremos que en una imagen de la corteza cerebral humana normal teñida por este método, las células presentan pequeñas oquedades que dan al protoplasma un aspecto reticulado y que probablemente representan la negativa de aquellos granos mitocondriales encontrados por Nageotte, llamados gliosomas por Fieandt, y teñidos intensamente por el método del tanino y la plata amoniacal por nosotros.

Esta estructura esponjosa sufre con la hipertrofia de las células neuróglicas y con el espesamiento de los brazos neuróglicos graves alteraciones, que finalmente conducen á su desaparición.

El protoplasma se muestra entonces unido ó granular, pero aquellas finas oquedades han desaparecido, y con ellas el aspecto reticulado. Quizá también desaparecen, en parte, los gliosomas, y esto quieren indicar nuestras preparaciones de los mismos casos con el método del tanino.

La hipertrofia (fig. 1), al mismo tiempo que la simplificación de la estructura, parece llevar consigo una simplificación de la forma. Las grandes células hipertróficas tienen prolongaciones espesas y toscas, de curso algo ondulado, y que no se ramifican ni tan abundantemente ni tan regularmente como las de las células normales. En las buenas preparaciones vemos frecuentemente, al lado de las prolongaciones muy espesas, otras finísimas y pálidas justamente perceptibles, á veces fragmentadas, y cuya dependencia del soma celular no siempre es fácil de trazar. Parecería como si al mismo tiempo que unas prolongaciones se espesan enormemente, otras se atrofiasen considerablemente. De todos modos, la simplificación de la parte hipertrófica es un hecho que no deja de tener ciertas semejanzas con la hipertrofia de las neurofibrillas, vista en muchos estados funcionales y patológicos que también lleva consigo la simplificación del retículo.

La forma de las células hipertróficas se hace frecuentemente muy irregular: sus prolongaciones se muestran tortuosas y con ensanchamientos y tuberosidades especiales. Es frecuente, como ya ha sido visto, que las prolongaciones, en relación con los vasos, se hipertrofien muy especialmente. Algunas prolongaciones, en contra de lo que sucede normalmente, se ensanchan al alejarse del núcleo, y á veces rematan por bolas ó mazas (fig. 2), como también han visto Cajal y Lafora en el perro senil, y, finalmente, ciertas células se muestran marcadamente moniliformes y otras sufren una extensa fragmentación.

El hecho de la fragmentación de las células neuróglicas se muestra en nuestras preparaciones con gran abundancia.

Sin querer, por el momento, dar una interpretación á este fenómeno, hemos de mencionar que, como Cajal ha señalado, una alteración semejante puede verificarse por autolisis post-mortal. En nuestro caso es lo probable, sin embargo, que no se trate de un proceso cadavérico, dado que se encuentra con mucha mayor frecuencia que en otros casos de los examinados por nosotros, y que su distribución en elementos aislados, entre otros cuyos aspectos son totalmente diferentes, no parece argumentar á favor de una acción general, como la supuesta en las alteraciones cadavéricas.

De todos modos, la fragmentación lleva á la formación de imágenes semejantes á las células amiboides por la parte que corresponde al protoplasma perinuclear, y á la formación de numerosos cuerpos enteramente análogos á los Füllkörperchen, señalados por Alzheimer. Sin tratar de discutir la significación de las células amiboides, muy en litigio en los actuales momentos gracias á las investigaciones de Alzheimer, Rosental, Buscaino, etc., queremos aquí solamente consignar que el fenóme-

no de la fragmentación, tan abundante en nuestras preparaciones, produce verdaderas células de aspecto amiboideo, y que éste es uno de los mecanismos que, acompañado de la hinchazón del protoplasma, deben de tenerse en cuenta para la explicación de estas formas histológicas.

Otro fenómeno reactivo estudiado con ventaja por este método en la parálisis general, es el de la adaptabilidad de las células neuróglicas á las vecinas células nerviosas (fig. 3). Esta adaptabilidad vista en parte por otros autores, se manifiesta extraordinaria en nuestras preparaciones. No sólo los cuerpos celulares forman capuchones, calotas, forros y envolturas extensas á las células nerviosas en modo muy anormal, sino que en extensiones considerables se adaptan las prolongaciones de las células neuróglicas á los tallos piramidales, acompañándoles en todo el trayecto que éstos pueden ser perseguidos en el microscopio, y formándoles á veces por la colaboración de varias ramas casi un forro continuado, algo semejante á lo que nosotros vimos ya con respecto á las células en bastoncito.

Adaptadas á las células nerviosas algunas neuróglicas sufren la transformación moniliforme y, finalmente, la fragmentación.

En relación con la adaptabilidad de las células neuróglicas á las nerviosas se halla el problema de la formación de las células en bastoncito. Estos elementos que constituyen un hallazgo de gran constancia en la corteza paralítica, han sido estimados á las veces como célula neuróglica (Nissl), como elementos mesodérmicos desprendidos de la pared de los vasos (Alzheimer), como productoras de fibras neuróglicas (Sträussler), como restos de vasos atróficos (Cerletti), como células satélites crecidas á lo largo en los espacios libres por la retracción de los cuerpos pirámides (Cerletti), y como células fagocitarias que para su trabajo de incorporación y elaboración de los elementos desintegrativos del sistema nervioso, se adaptan á las estructuras en degeneración, ó sean las células nerviosas en este caso (Achúcarro).

Nosotros hemos examinado cuidadosamente con el método de Cajal y con el de Nissl, los casos de parálisis que ahora describimos, y hemos añadido á estas observaciones las practicadas en un conejo rábico en el asta de Ammon, donde estos elementos abundan considerablemente (Achúcarro).

Uno de los grandes méritos del nuevo método de Cajal, es que tiñe el protoplasma de las células neuróglicas de la corteza en gran extensión y con toda constancia, de modo que su electividad por el protoplasma neuróglico es superior á la de todos los métodos hasta ahora conocidos. Cabe, pues, pensar que aquellas células pequeñas que forman parte de las satélites y otras muchas esparcidas por la substancia blanca y gris, y pre-

N. Achúcarro y M. Gayarre: **Nuevos estudios sobre la histopatología de la parálisis general.**



Fig. 1. — Método del oro y sublimado de Cajal. Enorme célula neuróglica de la corteza cerebral en la parálisis general progresiva. La estructura reticulada de las células protoplásmicas ha desaparecido. Ciertas ramas celulares aparecen muy hipertróficas, mientras que otras son atróficas y casi imperceptibles.



Fig. 2. — El mismo método. Corteza cerebral en la parálisis general progresiva. — A, célula hipertrófica con apéndices terminados en maza y una larga prolongación que se dirige hacia un vaso; B, fragmentación de una célula neuróglica; C, hipertrofia del protoplasma neuróglico con retracción del núcleo.



Fig. 3. — El mismo método. Corteza cerebral en la parálisis general. Diversos ejemplos de la adaptación de las células neuróglicas hipertróficas (I), al tallo apical de una neurona (II y III) y á diversas regiones del soma.

N. ACHÚCARRO Y M. GAYARRE: **Nuevos estudios sobre la histopatología de la parálisis general.**

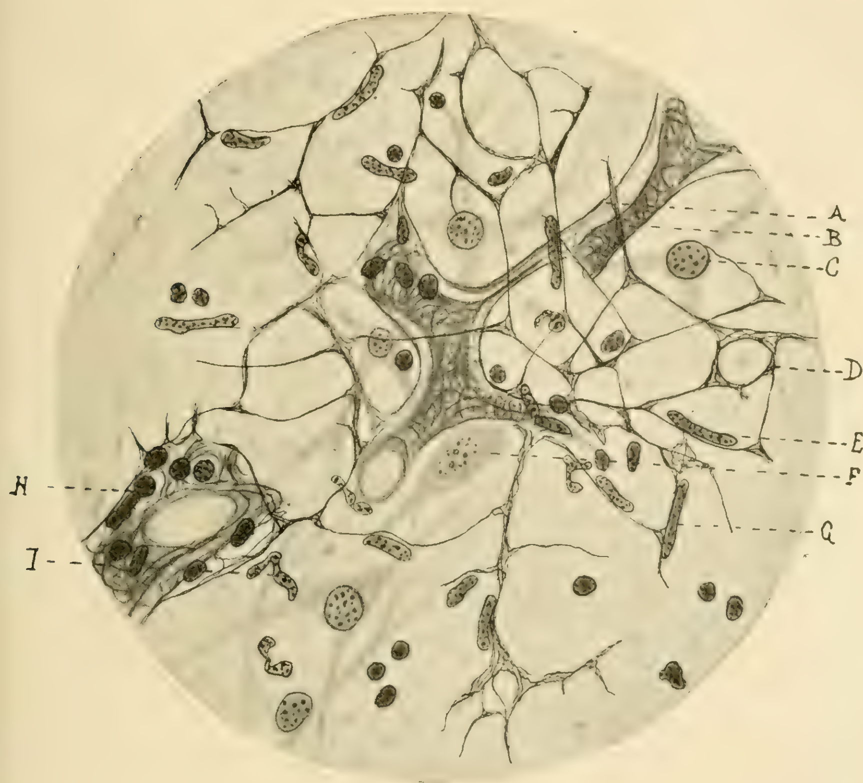


Fig. 4.—Método del tanino y la plata amoniacal. Corteza cerebral en la parálisis general progresiva. Células en bastoncito mesodérmicas (E G y semejantes) acompañando á las trabéculas conectivas de nueva formación.

ferentemente en torno de los vasos, y que no se tiñen ni poco ni mucho con este método, no sean de naturaleza neuróglica. Otro tanto sucede con las células en bastoncito; su protoplasma que, como nosotros hemos demostrado por otros métodos, puede ser complicado y ramificado, no se tiñe por este procedimiento ni poco ni mucho. Así, pues, los resultados de este método nos hacen inclinar hacia la opinión de la naturaleza no neuróglica de las células en bastoncito.

Habiendo señalado nosotros mismos en casos de parálisis general cómo las células en bastoncito parecían desprenderse de los vasos (fig. 4), como Alzheimer figuró en su gran trabajo, y habiendo confirmado recientemente en la rabia y en la enfermedad del sueño estas relaciones de las células en bastoncito, creemos que se trata aquí, por lo menos en gran parte, de elementos mesodérmicos emigrantes, quizá de origen hemático, que penetran en el tejido nervioso, que disponen de capacidades fagocíticas, y cuya forma alargada y cuya orientación especial son debidas á la adaptación á las pirámides y á sus tallos apicales.



Fenómenos progresivos de las células nerviosas en la senilidad

POR

GONZALO R. LAFORA

Con objeto de comprobar en el cerebro del perro senil la falta de las lesiones características de la senilidad en el hombre (placas miliares seniles y cestos celulares ó degeneración fibrilar de Alzheimer), que había sido mencionada por Simchowicz en su trabajo sobre la histopatología de la demencia senil, escogimos el cerebro de un perro *basset* de quince años y medio.

Este perro senil, merced á una doble catarata, y probablemente á la fibrosis del oído interno, no podía utilizar ni el sentido de la vista, ni el del oído, para comunicarse con el mundo exterior, haciéndolo casi exclusivamente por medio del olfato.

Mencionamos este detalle funcional por coincidir con la circunstancia de que los fenómenos progresivos encontrados por nosotros en las células nerviosas de este perro se hallaron sólo en las células del asta de Ammon, que, como es conocido, es un centro olfativo importante.

Los estudios fueron hechos principalmente con los métodos neurofibri-

llares de la plata de Cajal y de Bielschowsky, y con el nuevo método para la neuroglia de Cajal (sublimado-oro).

Coincidiendo con Simchowicz, no pudimos encontrar ninguna placa senil, ni ningún cesto celular fibrilar.

En cambio, en el asta de Ammon, exclusivamente en las células piramidales gruesas de la parte inferior del asta, encontramos las alteraciones peculiares de que nos vamos á ocupar.

Consisten éstas en la formación de numerosas ramas nuevas que parten de las prolongaciones protoplasmáticas y terminan á poco trecho de su nacimiento. Estas ramas nuevas contienen neurofibrillas bien perceptibles, y algunas parecen acabar en un botón terminal. La presencia de estas ramificaciones neoformadas de las dendritas, se observa á poco trecho de su separación del cuerpo de la célula nerviosa. El trayecto de la dendrita en que se observan las neo-ramificaciones mencionadas se encuentra rodeado por una substancia homogénea que envuelve á dichas ramificaciones. No puede determinarse si esta substancia excita á la formación de dichas ramificaciones, cosa probable, ó si está allí para protegerlas. En la masa de dicha substancia se observan algunos núcleos de células como neuróglicas.

La masa entera y la dendrita está rodeada de numerosas neurofibrillas que dan la apariencia de una cápsula.

El fenómeno descrito parece tener alguna analogía genética con la formación de ramas nuevas en las células de los ganglios espinales y de los ganglios simpáticos en la senilidad, los cuales han sido descritos por diversos investigadores.

DISCUSIÓN

El Sr. **Arcaute** dice que, juzgando por la descripción y por los dibujos presentados, la formación descrita es igual á la que él describió (en esta Socidad) (1) en las células de Purkinje de un caso de parálisis general. También allí había gran número de ramas nuevas derivadas de las prolongaciones protoplasmáticas y terminadas en especie de botones terminales.

El Sr. **Achúcarro** cree que, si no iguales, ambos fenómenos tienen cierta semejanza.

(1) *Ruiz de Arcaute:* Sobre algunas alteraciones del cerebelo en la parálisis general, Boletín de la Sociedad Española de Biología, Enero 1912.



Nuevo método para la obtención de los dactilogramas y estudio microscópico de las crestas papilares

POR LOS DOCTORES

T. MAESTRE Y A. LECHA-MARZO

Siendo sinceros, debemos declarar que cada día que pasa aparece un libro, una monografía y una nota sobre dactiloscopia, y, no obstante, los trabajos originales son muy contados. Sin embargo, en ésto como en todo, hay todavía cosas por hacer.

Dedicamos hoy esta nota á exponer las tentativas hechas en nuestro Laboratorio sobre la posibilidad de sustituir la técnica corriente para la obtención de los dactilogramas (procedimiento de la tinta) por otro menos engorroso, más limpio y que permita — esto es lo principal — un estudio más exacto de la cresta papilar.

Tanta monografía nueva y no hemos parado nuestra atención en un hecho importante: los dactilogramas que nosotros estudiamos no son toda la realidad. Se estudia la cresta papilar con sus bifurcaciones, ojales, interrupciones, etc., y no se nos ocurre pensar que esta misma cresta presenta un interior lleno de detalles característicos y que los dactilogramas ordinarios á la tinta no presentan estos detalles, ó si los presentan es de una manera confusa.

Cuando nosotros en la práctica, y ya se nos ha presentado el caso, aseguramos que un determinado individuo de la humanidad es el autor de las huellas digitales dejadas en los lugares de un delito, fundamos nuestra afirmación en la observación de más de 12 puntos homólogos, y en ésto no hacemos otra cosa que seguir la norma dada por Galton, Schlaginhaufen, Balthazard, etc. Debemos consignar inmediatamente, que no tienen la misma importancia para convencer á un tribunal la demostración de 12 puntos característicos pertenecientes á la región marginal de un dactilograma, que otros 12 puntos pertenecientes á una región nuclear. En muchos casos toda prudencia es poca; una dactiloscopia mal comprendida puede condenar á un inocente. Urgen los procedimientos que permitan demostrar un mayor número de puntos característicos en la huella encontrada en los lugares del delito, para que el reincidente no escape á la identificación, y para que nuestras dudas, tan penosas á veces, disminuyan á medida que aumenta nuestra certidumbre.

*

En este orden de trabajos debemos incluir el método que nosotros publicamos hoy.

A nuestro amigo Edmond Locard (1) corresponde el mérito de haber señalado toda la importancia que ofrece al práctico la demostración de los orificios sudoríparos contenidos en las crestas papilares. Cuando tocamos un objeto de superficie lisa, dejamos impresa toda nuestra filigrana digital, y en el interior de cada línea otra filigrana formada por los orificios de las glándulas del sudor, que revela el microscopio ó la ampliación fotográfica, y á cuyo estudio ha dado Locard el nombre de *Poroscopia.*

Repetimos, el delincuente puede dejar sobre los objetos la huella de sus crestas papilares y los mil orificios de sus glándulas sudoríparas, es decir, una impresión perfecta. Por el contrario, en nuestros gabinetes de identificación guardamos los dactilogramas del reincidente, obtenidos con el procedimiento ordinario de la tinta tipográfica, que no permiten un estudio de las huellas de los orificios sudoríparos.

Estudiando la cuestión, creemos que será posible que otro de nuestros amigos, el Dr. De Rechter, de Bruselas (2) modifique algún día la opinión que acaba de dar sobre la poroscopia. Dice De Rechter: «Mis observaciones personales me llevan á creer que no podrá jamás ser más que un método de excepción».

Referiremos ahora los ensayos nuestros.

Cuando se examinan los dactilogramas de las fichas ordinarias (y los que proceden de los servicios de identificación son, por la práctica de los agentes, los más completos), ayudándonos de una lente se comprueba que los espacios blancos correspondientes á los orificios sudoríparos están muy mal limitados, ó faltan por completo, y se puede decir que realmente las impresiones con la tinta tipográfica no permiten estudiar el interior de las crestas. El microscopio demuestra mejor lo que afirmamos.

Hemos tratado de sustituir el método clásico y pensado que se podía rodar el dedo ó imprimir la palma sobre una substancia grasa y después imprimir sobre el papel, y revelar la huella con uno de los polvos reveladores que hemos estudiado en otra nota (3).

Indicaremos solamente los numerosos ensayos en que hemos fracasado, pues esto evitará que algún otro de nuestros colegas siga la misma vía, que no nos parece conducir á grandes resultados.

(1) *E. Locard:* La Poroscopie. Identification des criminels par les traces des orifices sudoripares. *Arch. d'Anthrop. crim.*, tomo XXVIII, 15 Julio 1913.

(2) *De Rechter:* A propos d'identification d'empreintes diverses. *Arch. Intern. de Méd. Lég.*, vol. IV, Octubre 1913.

(3) *Maestre y Lecha-Marzo: Sociedad Española de Biología*, 1913. — *Sánchez: Idem*, 1913. — *Cortezo Collantes: Idem.*, 1914.

Distintas substancias grasas: sebo, aceites, lanolina, diversos cosméticos (casas Roger, Piver y Pinaud, de París), vaselinas, etc., extendidas en capa fina y utilizándolas como tinta para después revelar la huella, no dieron todas la fineza de detalles á que nosotros aspirábamos; algunas eran medianas, permitían resultados análogos á los de la tinta, y otras malas. Por el contrario, después de muchísimos tanteos con mezclas de ceras y alguna de las materias grasas indicadas, hemos encontrado una mezcla, sólida á la temperatura ordinaria, que permite lo que deseábamos. Indicaremos en seguida su composición y modo de empleo.

Necesitábamos escoger una substancia reveladora entre las muchas que podemos elegir entre las propuestas y, también después de muchos ensayos, hemos elegido para nuestro método el polvo de óxido de cobalto.

Después de obtenida la huella, para las necesidades ulteriores era necesario fijarla, y para ello rechazamos los barnices de pintores (hemos ensayado algunos de la casa Soehnee y de la casa Lefranc, de París); por el contrario, nosotros recomendamos otro parecido á una fórmula ya empleada por Stockis y que impide la dispersión de los granos de óxido de cobalto.

Para nuestras fichas empleamos el papel grueso, muy satinado. Para otras fichas el papel celuloide, completamente transparente, y por ésto nos sirven para obtener, como si fuesen una placa fotográfica, grandes ampliaciones.

I. — Descripción del método

Preparamos al calor la mezcla siguiente, que nos sirve ya indefinidamente:

Cera amarilla	4	gramos.
Pez griega	16	—
Esperma de ballena	1	—
Sebo	5	—

Esta otra puede también ensayarse; nosotros preferimos la primera:

Cera amarilla	8	gramos.
Pez griega	32	—
Esperma de ballena	2	—
Sebo	25	—

Una vez líquida la dejamos enfriar en un recipiente plano, de cristal ó metal, y de poca altura.

Cuando la masa está sólida rodamos el dedo (previamente desengrasado con el éter ó el xilol) sobre su superficie y parece que nada ha separado; le rodamos nuevamente sobre el papel ó el celuloide, revelamos

la huella con el óxido de cobalto y procedemos á su fijación en la fórmula que sigue:

Goma	25	gramos.
Alumbre de potasio	10	—
Formol al 40 por 100	5	—
Agua	300	—

Después de obtenida la huella pasamos la superficie de la pasta *tintero* sobre una llama, queda perfectamente lisa, y pasados algunos momentos obtenemos la siguiente. Antes de rodar el dedo sobre el papel ó el celuloide, nosotros vemos ya sobre la superficie de la pasta si la impresión ha sido bien hecha.

Todo constituye un *tour de main*, sencillo de aprender después de varios tanteos.

El método que proponemos puede y debe aún ser objeto de perfeccionamientos.

II. — Resultados

Si examinamos los dactilogramas obtenidos por este procedimiento, se aprecia en seguida su superioridad sobre el método ordinario, pues los contornos de las líneas no son mucho más netos, sino que además las crestas, aun las marginales, presentan las huellas de los orificios sudoríparos.

Por esto, nosotros podemos publicar las fotografías de huellas completas en lo que se refiere á los poros.

Además, la superioridad se aprecia aún mucho mejor comparando microfotografías de segmentos de crestas: unas, á la tinta tipográfica; otras, obtenidas con nuestro método.

Cuando se obtienen con un mismo dedo varios dactilogramas, la forma y la posición, estudiándolos comparativamente, es siempre la misma: unos redondos, otros ovoidales, en reloj de arena, formas irregulares, etcétera. Unos se extienden de un borde á otro ú ocupan el centro de la cresta y otros los márgenes, unos juntos, otros separados. Su diámetro varía entre 120 á 250 milésimas de milímetro.

La ficha así obtenida es la que utilizaremos para el estudio comparativo con las huellas encontradas en los lugares del delito. Los caracteres de estas últimas los pondremos de manifiesto por la fotografía, con iluminación oblicua, ó mediante el empleo de substancias reveladoras.

Aspiremos á que la dactiloscopia no sea sólo una simple lectura de los dibujos que encontramos en nuestras manos, sino también origen de métodos, resultado de los trabajos de los iniciados, y que nos hagan pensar que la labor fué en algunos momentos algo más que una traducción de los dibujos papilares.



Fig. 1.— Dactilograma con dos deltas. Demostración de los poros.



Fig. 2. — El mismo dactilograma menos aumentado.



Fig. 3. — Centros del dactilograma. Impresión positiva.



Fig. 4. — Demostración de la situación y forma de los poros.

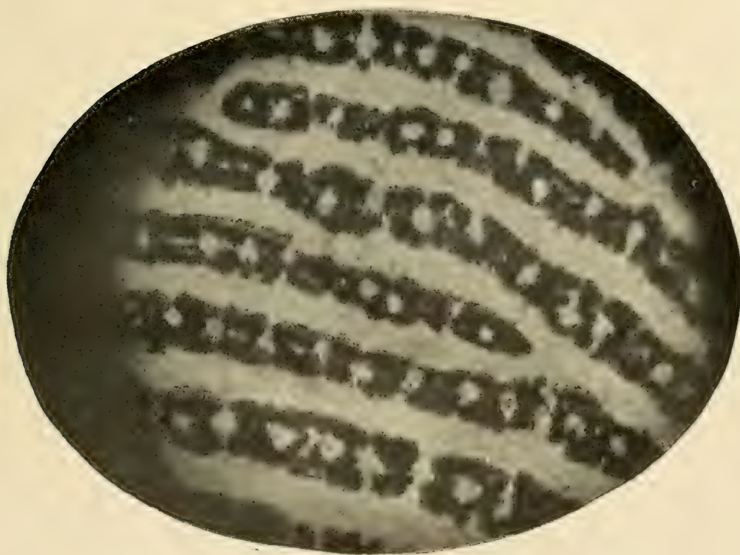


Fig. 5. — Demostración de la situación y forma de los poros.

Sobre la reacción de Abderhalden

POR

J. MOURIZ RIESGO

El organismo animal lucha continuamente por conservar la uniformidad fisico-química inherente al ordenado funcionamiento del mismo. A cualquier transgresión en esa uniformidad responde el organismo como medio de defensa, poniendo en juego los resortes de que dispone, tanto más variados en la forma cuanto más elevado es el grado de diferenciación histológica que poseen. Por esto no admite nada como materia propia que no haya sido previamente desdoblado, llevado á la simplificación necesaria, para después con esos productos reconstituir el material idoneo á su propia organización. Esto es lo que hacen con los alimentos todos los seres vivientes, desde los más sencillos á los más complicados. ¿Cómo lo realizan? Mediante *fermentos* que, lentamente, sin reacciones bruscas, que podrían alterar la normalided energética de las células, los llevan al grado de simplificación necesaria para poder ser admitidos como materia propia. En el embarazo, por la acción histolítica de las vellosidades coriales, pasan á la sangre elementos albuminoideos con un número amino-ácido distinto al que integra las moléculas albuminoideas del plasma, extraños á él, por lo tanto, determinando la presencia de fermentos en la sangre, que los desdobla hasta convertirlos en inofensivos; estos fermentos tienen la propiedad de *desdoblar placenta* debidamente preparada. En todo proceso patológico en que haya desintegración celular ó, mejor, degradación de albuminoides, se puede encontrar en la sangre fermentos capaces de desdoblar los albuminoides pertenecientes al órgano lesionado. Precisamente en esto se funda la aplicación al diagnóstico clínico de la reacción del ilustre profesor de la Universidad de Halle, y hoy está confirmado su valor en neoplasias, procesos inflamatorios de órganos genitales, psiquiatría, etc., pues no hay apenas campo de la patología que no sea accesible á tan interesante método.

La reacción en sí no es difícil, pero tiene muchos puntos que requieren gran atención por parte del operador, tanta, que el mismo Abderhalden se atrevió á dudar de los resultados obtenidos, por los que no habían aprendido el método en su laboratorio ó habían sido enseñados á manejarlo por los que en él hayan estado.

Abderhalden emplea dos métodos para demostrar si un fermento des-

dobla los albuminoides con quien se pone en contacto ó no; el método de diálisis y el óptico. El primero se funda en que los albuminoides no pasan á través de las membranas animales, mientras que lo hacen los productos de su desdoblamiento. El segundo, en las variaciones que el plano de polarización experimenta al actuar los fermentos del suero sobre las peptonas. En este procedimiento no se emplean albuminoides como en el de diálisis, sino peptonas, pero peptonas específicas, es decir, preparadas con albuminoides del órgano que se sopecha pueda estar lesionado. Nosotros hemos empleado el procedimiento de diálisis, que es á su vez el más difundido para el diagnóstico clínico.

Método de diálisis.

Se usan para la reacción unos dializadores de 5 centímetros de largo por unos 2 centímetros de ancho. Es condición indispensable que se los examine antes de usarlos, respecto á su *impermeabilidad para los albuminoides* y á su *igual permeabilidad para las peptonas*. Esto debe hacerse con mucho esmero hasta con los que la casa Schöp, de Halle, suministra como bien comprobados.

Otro punto de capital importancia es la preparación de la placenta ó del órgano que se trate de investigar. No se usará jamás una placenta sin que haya sido previamente desprovista de toda huella de sangre; el material debe lavarse hasta que quede *completamente blanco*.

Ya blanco, se le cuece hasta que no ceda más productos capaces de reaccionar con la miohidrina. Una vez conseguido esto, se la conserva en agua destilada y cloroformada y bajo una capa espesa de toluol. La miohidrina, cuya fórmula química es $C_6H_4 < \begin{matrix}CO\\CO\end{matrix} > C < \begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}$ produce con los amino-ácidos que llevan un grupo funcional amido (NH_2) en el átomo de carbono inmediato al grupo funcional carboxilo (CO. OH) una coloración violada, tanto más intensa cuanto mayor sea el número de amino-ácidos libres.

El suero se recogerá con precauciones asépticas, á ser posible, en ayunas; debe estar *exento de hemoglobina*.

Preparado ya todo con absoluta escrupulosidad, puede procederse á hacer la reacción. Para ello se toma un trozo de placenta, cuyo buen estado debe comprobarse y se pone en un dializador; después se añade el suero y el todo se coloca en un matracito que contiene 20 cent. cúb. de agua destilada, cubriendo el contenido del dializador y el líquido del matraz con una capa de toluol para evitar infecciones y una desigual evaporación entre el líquido del matraz, sueros, placenta y el que como testigo debe hacerse siempre con suero solo.

Esto no debe olvidarse nunca, porque todos los sueros contienen substancias dializables, y algunos en tal cantidad, que pueden por sí solos dar la reacción.

Para tener más seguridad de que no hay una evaporación desigual durante las dieciséis horas de estufa, es conveniente cubrir los matracitos con vidrios de reloj.

Pasado este tiempo, se sacan los matraces de la estufa y con pipeta esterilizada se toman 10 cent. cúb. del dializado, echan en un tubo de ensayo, añade al mismo 0'2 cent. cúb. de imohidrina al 1 por 100 y hierven poniendo en el mismo una barillita de madera, para regularizar la ebullición durante un minuto. El resultado se anota á la media hora. Si el suero procede de embarazada, pueden suceder los casos siguientes: que el suero por sí solo no dé substancias capaces de reaccionar con la imohidrina en cantidad suficiente para dar la reacción, y en este caso, el tubo correspondiente al saquito, con suero solo, no dará la reacción, mientras que el que tiene sueros y placenta, la dará; el caso es, por consiguiente, positivo. Puede suceder que el tubo suero sólo dé coloración violada, pero si el tubo suero placenta la produce mucho más intensa, y la evaporación tanto en estufa como después al hervir, ha sido igual, y la placenta no daba antes de la prueba ni el menor indicio de coloración, pues debe considerarse también el caso como positivo.

Para demostrar cómo el incumplimiento de las precauciones apuntadas muy á la ligera, como á una comunicación de esta índole corresponde, conduce seguramente á errores de diagnóstico, citaremos un ejemplo que el profesor Abderhalden nos expuso en sus explicaciones, contenido también en su obra *Abweherfermente des tierischen Organismus.*

Supongamos que la cantidad de substancias capaces de producir la coloración violada con la imohidrina están por encima del número 1. Si disponemos de cinco sueros procedentes de no embarazadas que contienen tales substancias, sí, pero en cantidad inferior á 1, sean por ejemplo: 0'15, 0'58, 0'88, 0'95, 0'98, pues estos sueros, por sí solos, jamás podrán sus dializados dar la coloración violada con la imohidrina. Con estos sueros se disponen tres series de pruebas, una con placenta que no da el menor indicio de reacción, ó, es decir, *bien preparada;* otra con placenta que da indicios de reacción, 0'1 gramos, y otra con placenta defectuosa preparada, admitamos que da por reacción 0'5 gramos de dichas substancias. Pues bien, las pruebas correspondientes á los sueros solos serán, como ya hemos dicho, negativas. Las hechas con los sueros placenta O, serán también negativas, porque no se ha adicionado nada á lo que el suero tiene. Las correspondientes á suero placenta 0'1 serán negativas, para los sueros que contienen 0'15, 0'58 y 0'88, pero serán positivas para

los otros dos. En la última serie será negativa para el suero 0'15 y positivas para todas las demás. Véase, pues, cómo por falta de cuidado pueden resultar positivos de embarazo hasta sueros procedentes de hombre.

Otro tanto sucede con la desigual concentración.

Hasta ahora no hemos aplicado el método más que al diagnóstico de embarazo, y á juzgar por los 26 casos que llevamos con admirable resultado, puesto que ni en un sólo caso nos ha fallado el método, 20 de ellos proceden de la Clínica de Obstetricia de la Facultad de Medicina de Madrid, por lo que desde aquí expresamos nuestra profunda gratitud al ilustrado profesor Sr. Segarra, que con grandeza de espíritu se prestó á servirnos y al interno Sr. García Puente, que nos suministró la sangre de la mayor parte de los casos.

Los casos más interesantes de que hasta ahora disponemos, son: uno de mes y medio de embarazo, remitido para su diagnóstico por el Dr. Segarra, nos dió reacción positiva y el diagnóstico ha sido posteriormente confirmado; otro de una enferma de la misma Clínica, cuyo suero no desdobló placenta, útero, mioma ni epitelioma de útero; fué operada y resultó tener un quiste sarcomatoso de ovario. Tenemos otro caso de una embarazada de tres meses, remitido por el Dr. Sansó, asistente á la Clínica de Maternidad, que desdobló útero, además de placenta. Hasta ahora no sabemos si se trata de un error de diagnóstico ó es que la embarazada tiene algún proceso patológico de útero. Los fermentos desaparecen de la sangre poco tiempo después del parto, lo que hemos tenido ocasión de comprobar. En el número próximo del *Boletín del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII*, daremos detalles acerca del método. Estos son los resultados de nuestro trabajo hecho en la Sección de Sueroterapia del citado Instituto. Nos ofrecemos autorizados por nuestros maestros y jefes el director del Instituto y el jefe de la Sección á que pertenezco, para enseñar el método á los compañeros que lo deseen.



DESPACHO ORDINARIO Y MOVIMIENTO DE SOCIOS

En la sesión del 23 de Enero fueron admitidos como socios numerarios los Dres. Lamas, Varillas, Carreras y Cortezo-Collantes, y como socio corresponsal el Dr. Vila Barberá (de Valencia), siendo presentados por los socios numerarios Dres. Carracido, Lecha-Marzo y Mayoral.

En la misma sesión se dió cuenta de la dimisión del profesor Azúa del cargo de Vicepresidente de la Sociedad, por impedirle sus obligaciones el asistir á muchas de las sesiones, siendo elegido para dicho cargo el profesor Carracido.

En la sesión del 26 de Febrero fueron admitidos, como socio numerario, el Dr. Mouriz, y como socio corresponsal, el Dr. Antonio Piga (de Toledo).

Se dió cuenta también del deseo de algunos señores doctores de Santiago, de formar una Sociedad de Biología, corresponsal de la de Madrid, á la cual se enviarían los trabajoss para su publicación. También el Secretario de la Sociedad de Biología, de Barcelona, Dr. Bellido, hizo entrega del tomo de los trabajos de dicha Sociedad.

La revista francesa *Biologica* ha solicitado el cambio con el BOLETÍN de nuestra Sociedad, siendo acordado dicho cambio.

Resumen de cuentas aprobado por la Sociedad en la sesión del 26 de Febrero de 1914.

INGRESOS

Existencia de la liquidación anterior	1.023,20
692 cuotas, á 2 pesetas	1.384,00
Tres suscripciones de D. Nicolás Moya	33,00
Total	2.440,20

GASTOS

Pagado al Colegio de Médicos por nueve sesiones	112,50
Idem á los mozos por reparto, correo y papel	332,50
Idem á la Imprenta de Hijos de Nicolás Moya	565,50
Gratificación al operador (proyección)	2,50
Impresión de etiquetas	22,00
Total	1.035,00
SALDO Á FAVOR DE LA SOCIEDAD	1.405,20



SESIÓN DEL 27 DE MARZO DE 1914

Tratamiento de la triquinosis

POR

SÁNCHEZ DE VAL



La epidemia de triquinosis, desarrollada en el pueblo de Algar (Murcia), durante los últimos días del mes de Diciembre y los meses de Enero y Febrero del presente año, ha sido por el número de casos, por lo típico de los cuadros clínicos y por los resultados terapéuticos obtenidos, una de las más interesantes que se han podido estudiar de esta enfermedad.

El número de atacados ha sido de 303, habiendo empezado la ingestión de carnes triquinosas por los días de la Pascua de Navidad, y terminado la aparición de nuevos casos á finales del mes de Enero; explicándose esta duración larga del período de invasión epidémica, por haberse utilizado toda la carne enferma en forma de embutidos, que se consumían poco á poco.

De estos 303 enfermos, hemos visitado y tratado, en unión de los doctores D. Antonio Rosique, médico del pueblo, y D. M. Más Gilabert, á 218, habiendo tomado observaciones y notas clínicas de 136 de ellos que nos parecieron los más interesantes. Este material servirá para un trabajo más amplio que preparamos en colaboración, y del cual puede servir la presente nota como resumen y anticipo.

Nuestras observaciones comprenden 218 casos; de éstos, 80 han sido graves, 56 han revestido intensidad media y 82 formas leves, que han curado la mayoría de las veces sin tratamiento. La enfermedad ha revestido en casi todos los casos tipos clínicos como el que á continuación trazo esquemáticamente, teniendo en cuenta la variedad individual de todas las entidades patológicas y las dificultades de observación detenida y minuciosa, propias del medio epidémico.

Después de la ingestión de la carne contaminada, sobrevenían fenómenos dependientes del tubo digestivo; generalmente, anorexia, sequedad

de lengua, sed y estreñimiento; más raras veces fenómenos de gastroenteritis con vómitos, dolores, cólicos violentos y diarreas profusas. Estos síntomas sólo se han presentado en 3 á 4 por 100 de los casos, y en cambio ha sido mucho más frecuente que esta primera fase intestinal, ó no haya existido ó haya pasado desapercibida. Casi al mismo tiempo, y á veces antes que los fenómenos intestinales, aparecía un edema blanco (parecido al de los nefríticos) en los párpados, que se extendía á la cara, frente y regiones temporales, y que de intensidad varia, desde pasar casi desapercibido hasta retratar el tipo clásico del triquinoso de *cabeza gorda*, no ha faltado casi en ningún caso y ha sido el síntoma *más constante* y *precoz* de la enfermedad en esta epidemia.

Existe conjuntivitis, y muchas veces verdaderos equimosis subconjuntivales.

Al mismo tiempo que estos fenómenos intestinales y el edema facial aparecen dolores musculares y ligera fiebre vespertina, durando todo este proceso de tres á seis días y sobreviniendo después uno ó dos días de relativa calma.

Pasado este período, la temperatura aumenta rápidamente, tomando un tipo remitente, con oscilaciones de 6 á 10 décimas de grado y máximas variables entre 38 y 41 grados; al propio tiempo los dolores se hacen violentísimos y sobrevienen las contracturas, principalmente en los miembros y del lado de la flexión, pero existiendo también en muchos casos, en las paredes del vientre, nuca, maseteros, músculos de la deglución y la fonación, intercostales y diafragma; el pulso se hace en este período muy rápido, blando y depresible en desproporción con la temperatura, pues la relación suele estar entre 100-110 con fiebre de 38 grados; 120-140 con 39, y 140-160 con temperaturas mayores, habiendo sido numerosos los casos en que ha pasado de esa cifra para hacerse incontable, irregular y arrítmico. La lengua se pone roja, lisa y seca, tomando un aspecto característico; la sed es ardiente, los sudores profusos; el estreñimiento habitual y el insomnio es fenómeno constante, acompañado en muchos casos de delirio violento. Tal estado dura de ocho á treinta días y en los casos en que no ha sido influído por la medicación va decreciendo para dar lugar al tercer período de la enfermedad, que llamamos fase caquéctica, ó termina con los enfermos por agotamiento, fenómenos meníngeos, cardíacos ó pulmonares (edema).

El período caquéctico se señala por la aparición de edemas generalizados, ascitis, gran anemia, pérdida de fuerzas, frecuencia y pequeñez extraordinaria del pulso y descenso de la temperatura, que con ligeras ascensiones vespertinas baja á la anormal durante las mañanas y aun en los casos graves llega á verdadera hipotermia, con temperaturas de 35

grados y fenómenos de edema pulmonar, dilatación de corazón y tendencia al colapso.

En los casos que caminan hacia la curación, la temperatura se restablece á la normal muy lentamente, los edemas se reabsorben poco á poco, renace el apetito y el enfermo entra en convalecencia, conservando una atrofia muscular marcadísima, con descensos dinamométricos del 60, 80 y 90 por 100, y con sensación de debilidad y de impotencia físicas muy marcadas.

Durante la convalecencia son frecuentes las neuralgias, las forunculosis, los pruritos de la piel y los trastornos digestivos. Hemos observado un caso de pleuro-pneumonía y un ligero derrame pericárdico, que se modificaron rápidamente. También durante la fase segunda de estadio hemos observado la sordera, las hemorragias rectales ó bronquiales; una vez amaurosis del ojo derecho, y otra una hemiplegia, que acabó con el enfermo.

La albuminuria es rarísima.

Durante esta epidemia tal ha sido, esquemáticamente considerada, la marcha de la enfermedad, con las variaciones dependientes de la mayor ó menor intensidad de cada caso, del ataque ligero ó violento del sistema nervioso, y de las modificaciones introducidas por el tratamiento.

Es de notar que en los casos leves, cuya cifra térmica no pasó de 38°, y en muchos de los cuales no se hizo tratamiento ninguno, fuera de los purgantes y el empleo de la glicerina á altas dosis, preconizados por las obras clásicas, la enfermedad ha recorrido sus tres fases, llegando en la casi totalidad de los enfermos al período de los edemas generalizados, la anemia profunda y la postración física, que caracterizan la fase de caquexia; al paso que en los tratados como ahora diremos, la enfermedad pudo dominarse en la mayoría de los casos, y rara vez, á pesar de la mayor gravedad, llegó á su tercer período.

Ante el número considerable de casos graves habidos en los primeros momentos de la epidemia, la inusitada gravedad de muchos de ellos y el fallecimiento de algunos, nos vimos precisados á plantear el problema del tratamiento.

Entre nuestros 218 enfermos teníamos 80 casos graves, en los que la temperatura pasó de 39-39°,5; 56 casos de intensidad media, con temperatura de 38-39°, y 82 leves, de los cuales muchos sólo se trataron por los purgantes, los tónicos y la glicerina.

De estos enfermos, entre los que no recibieron tratamiento hubo 6 graves, de los que 3 murieron (50 por 100); 12 de intensidad media y 67 leves.

Entre los 136 que recibieron tratamiento hubo 80 graves (60 por 100),

dc ellos 3 muertos (2 por 100), y 56 de mediana intensidad (42 por 100).

La mortalidad entre los enfermos graves fué:

No tratados, 3 entre 6 = 50 por 100.

Tratados, 3 entre 80 = 3'75 por 100.

De estos últimos todos ellos fueron inyectados en situación desesperada: 1 por el azul de metileno y 2 por el neosalvarsán, reinyectándose uno de estos últimos con cianuro de mercurio.

El efecto de la terapéutica en este sentido, y relacionando las cifras de mortalidad nuestras y aun las de la epidemia total (menos favorables), 8 casos en 303 (igual 2'5 por 100), con las corrientes en otras epidemias de 30-33 por 100, el resultado es extraordinario, máxime cuando el número de casos graves fué muy alto, 48 por 100.

Más marcados aún han sido los efectos de la terapéutica en lo que se refiere á la acción sobre temperatura y á la suspensión de los avances de la enfermedad. Los inyectados por nosotros—133—, á pesar de la alarmante gravedad de muchos de ellos, sólo en muy contados casos (7 ú 8) han llegado al período caquéctico, y éste ha sido siempre en enfermos en los que el tratamiento se sustituyó demasiado tarde. En cambio, en los casos no tratados, todos han llegado con mayor ó menor rapidez é intensidad al tercer período.

La duración media de la fiebre en los enfermos tratados ha disminuído en un 40-75 por 100 con relación á los no tratados, y la duración de la enfermedad, las molestias, las atrofias musculares y las convalecencias penosas se han abreviado en casi la totalidad de los casos.

El estudio terapéutico se llevó á cabo en la siguiente forma:

Enfermos	tratados	por el clorhidrato de emetina	3
—	—	por el azul de metileno	18
—	—	por el neosalvarsán	20
—	—	por el aceite gris	73
—	—	por el cianuro de mercurio	22
		Total de tratamientos	136

de los que hay que descontar los 3 tratados por la emitina, que habiéndose mostrado en absoluto ineficaz, se abandonó tratando á los enfermos por los preparados de mercurio: quedan en total, sometidos á tratamiento, 133.

Azul de metileno. — Fué el primer medicamento que utilizamos con grandes ilusiones de éxito y en los primeros y más graves enfermos de la epidemia. Se inyectaron 18 casos, 14 graves y 4 de mediana intensidad, empleando una solución acuosa estéril al 4 por 100 de esta droga, en la cantidad de 20 cént. cúb. por día, en inyección intramuscular en la

nalga, repetida durante cuatro ó cinco días consecutivos. En total, 0'80 gramos por día, y 3-4 gramos en totalidad.

De estos 18 enfermos, 2 casos graves y 4 de intensidad media, curaron sin más que este medicamento; pero todos ellos han llegado, aunque con poca intensidad, á la tercera fase; 11 hubieron de ser reinyectados con preparado de mercurio á los seis ó diez días de terminado el tratamiento por el azul, y 1 murió después de una inyección única que se le aplicó en estado desesperado. La duración de la enfermedad ha oscilado en los inyectados entre treinta y cinco y cuarenta y cinco días.

El medicamento se tolera muy mal, las inyecciones son muy dolorosas y en 8 casos se formaron grandes abcesos intramusculares, cuya curación resulta muy penosa.

En resumen : este medicamento parece haber mejorado á algunos de los enfermos, á otros les ha agravado su situación, y en general, es un medicamento malo, cuyo uso en la triquinosis no podemos recomendar.

Aceite gris al 40 por 100.

Este medicamento fué empleado en dosis máximas y generalmente utilizado en los adultos; el primer día una inyección intramuscular de 1 centímetro cúbico (0'40 de mercurio), y al día ó los dos días siguientes, otra de medio centímetro cúbico (0'20). En total, los enfermos recibieron 0'60, 0'80 y 1 gramos de mercurio metálico, en dos, tres y cuatro sesiones, con intervalos de veinticuatro á cuarenta y ocho horas. Fué bien tolerado, y hasta la fecha, habiendo pasado más de un mes desde sus primeras aplicaciones, ninguno de los 73 inyectados ha presentado estomatitis, diarrea, albuminuria, ni ningún otro signo de intoxicación hidrargírica.

Resultado. — De los 73 enfermos había graves 31 (42 por 100) y de mediana intensidad 42 (58 por 100). Han curado todos, oscilando el plazo de curación desde la inyección á la apirexia, entre tres y diez días y siendo generalmente las convalecencias cortas, de seis á doce días, desde la apirexia hasta el alta. Algunos inyectados muy tardíamente han llegado á la fase caquéctica, que desde luego ha sido leve y fugaz.

Este medicamento ha sido utilizado en mayor número de casos, no porque se haya demostrado como el de mayor actividad, sino principalmente por las comodidades de su manejo y fácil dosificación.

Neosalvarsán.

Este preparado fué con el azul de metileno de los primeros empleados, y con él hemos tratado enfermos gravísimos. Lo adoptamos con preferencia al salvarsán, por su fácil solubilidad y su manejo cómodo para em-

plearlo en inyecciones intravenosas, lo que lo hacía preferible en medio epidémico. La técnica empleada fué la del uso de soluciones concentradas en el agua destilada, estéril (0'90 por 15 gramos) y consecutiva inyección intravenosa. Dos inyecciones se hicieron en la nalga según la técnica de Wechsselman. Las dosis empleadas fueron generalmente una sola inyección de 0'90 gramos.

Resultados. — De los 20 enfermos tratados, eran graves 16 y de mediana intensidad 4. De los 16 graves murieron 2; 3 curaron después de estar gravísimos y los demás mejoraron y curaron rápidamente. De estos 20 enfermos, había 2 á quienes con anterioridad se había inyectado, sin resultado alguno, el clorhidrato de emetina, y 3 más, en quienes el tratamiento se mostró poco activo, se reinyectaron más tarde con aceite gris.

La medicación ha sido en general bien tolerada, produciendo ninguna ó escasa reacción general y en algunos casos las molestias locales consiguientes á ligeras extravasaciones del líquido de inyecciones; accidente fácil, si se tiene en cuenta que las inyecciones intravenosas en miembros edematosos y contracturados en flexión, necesitan una gran seguridad de mano y un hábito poco común.

El neosalvarsán ha demostrado ser un medicamento muy activo respecto á la triquina; en algunos de los casos ha producido reacciones inesperadas y casi milagrosas; en otros, especialmente cuando el sistema nervioso está muy atacado, los beneficios han sido menores y creemos que en esta forma (por lo demás poco frecuente) debe desaconsejarse este tratamiento ó emplearlo en dosis más pequeñas y repetidas.

La duración media de la fiebre, desde la inyección á la apirexia, osciló entre dos y tres días, y por término medio se consiguió á los cuatro días.

De los 20 enfermos tratados murieron 2, otros 2 han llegado al período caquéctico porque se les inyectó tarde y estaban gravemente atacados; los demás curaron en plena segunda fase y muy rápidamente. Siendo este lote muy rico en enfermos graves, la cifra de curación alcanza un 90 por 100.

Cianuro de mercurio.

Este producto se ha empleado en inyecciones intravenosas á la dosis de 0'02 centigramos á 0'07. Generalmente se han inyectado 2 centigramos el primer día y 1 los días sucesivos hasta un total de 5 á 7 centigramos. Una vez se empleó la vía intramuscular á título de prueba, sin que produjera la inyección excesivas molestias.

El medicamento ha sido en todos los casos admirablemente tolerado, no ha producido fenómeno alguno de intoxicación, la mejoría ha sido in-

mediata aun en los casos graves después de la primera inyección, y todos han llegado rápidamente á la apirexia. El tratamiento se ha suspendido al llegar la temperatura á la normal, y para esto se han necesitado en el caso que menos sólo 3 centigramos de cianuro y en el que más 7 centigramos. De los 22 enfermos inyectados, 13 eran graves y de ellos 3 gravísimos, 9 eran de mediana intensidad. Todos curaron.

Las convalecencias han sido más rápidas que con los demás medicamentos y en las historias clínicas existen casos con temperaturas de 39°,9 y 40°, que llegaron en tres días á la normal y entraron en convalecencia. A pesar de esta actividad, 2 enfermos llegaron al período caquéctico, pero éste fué muy leve y pasajero.

Creemos que el tratamiento por el cianuro de mercurio en inyecciones intravenosas es el más eficaz de los conocidos hasta el día y que la triquinosis puede tratarse por este medio en todos los casos con seguridad de éxito inmediato y rápido. Lo indicamos, pues, como el tratamiento de *elección*.

Podemos resumir nuestro trabajo que la reciente epidemia nos ha permitido fundamentar en considerable número de casos en las siguientes conclusiones.

Conclusiones clínicas.

1.ª En la epidemia del Algar, la fase clásica inicial de catarro gastro-intestinal ha faltado en la mayoría de los casos.

2.ª El síntoma más precoz y constante del período de invasión, ha sido el edema palpabral y facial.

3.ª La intensidad del proceso primitivo gastro-intestinal, cuando se presenta, no agrava el pronóstico ni su presencia ó ausencia permite juzgar de la marcha ulterior de la enfermedad.

4.ª Abandonada á sí misma, la enfermedad recorre casi siempre, aun en los casos leves, su ciclo completo; con tres fases, que pudiéramos llamar: 1.ª, de invasión ó edema facial, caracterizada por este síntoma precoz; 2.ª, de estadio ó tifoídica, caracterizada por la mayor cifra térmica, las contracturas, los dolores musculares violentos, el insomnio, la sed intensa y los sudores profusos; en esta fase es frecuente, aunque no constante, la lengua roja, seca y lisa; 3.ª, fase caquéctica; caracterizada por la hipotermia, la frecuencia y debilidad extraordinaria del pulso y los edemas generalizados. En esta fase son frecuentes la ascitis y el edema pulmonar.

5.ª La posibilidad de invasión del sistema nervioso por la triquina recibe un apoyo con nuestros dos casos, uno de amaurosis y otro de emiplegia de origen central.

Conclusiones terapéuticas.

1.ª Habiendo sido entre nuestros enfermos la cifra de casos graves igual ó superior á la de otras epidemias, y habiéndose reducido la proporción de mortalidad á 3 por 100, cifra no conocida hasta ahora en las epidemias de triquinosis, cabe admitir que esta reducción ha sido debida á los procedimientos de curación empleados por nosotros.

2.ª Los medios terapéuticos empleados, no sólo nos han permitido reducir notablemente la cifra de mortalidad, sino regular la enfermedad en la mayoría de los casos, suspendiendo el proceso y acortando, por consiguiente, la duración de la fiebre y la convalecencia.

3.ª El número de complicaciones en los enfermos tratados ha sido muy reducido y la atrofia muscular impedida en gran parte, sobre todo en los casos de aplicación precoz del tratamiento.

4.ª En orden de eficacia, el remedio más efectivo contra la triquinosis es actualmente el cianuro de mercurio, empleado en inyecciones intravenosas á la dosis de 3 á 10 centigramos, distribuídos en varios días.

5.ª A este preparado le sigue en eficacia el neosalvarsán á la dosis máxima de 0'75 á 0'90 en inyección intravenosa.

6.ª El aceite gris se ha mostrado un buen medicamento, de acción segura y de manejo fácil. Debe emplearse á dosis masivas de 0'40 á 0'80 en dos ó tres días, y es el agente de elección en las convalecencias pesadas y en los casos de intensidad mediana.

7.ª El azul de metileno, aunque no desprovisto en absoluto de acción terapéutica, es poco activo, de acción muy insegura y expone fácilmente á las supuraciones secundarias. En tal sentido debe desecharse como agente de tratamiento de la triquinosis.

8.ª El clorhidrato de emetina se ha mostrado en absoluto ineficaz, al igual que la glicerina, el empleo repetido de los purgantes y otras medicaciones ensayadas.

DISCUSIÓN

El Dr. **Pittaluga:** La comunicación leída por el Dr. Mayoral, aunque muy interesante por sus resultados desde el punto de vista epidemiológico y terapéutico, no puede, en nuestro entender, ser tomada en consideración como estudio biológico. Conviene, á este propósito, insistir en el carácter de esta Sociedad de Biología y en la tendencia que debemos á toda costa mantener; á saber: la de no apartarnos del método experimental, de sus procedimientos, de las condiciones que se requieren para que aceptemos como verdades las conclusiones de una investigación. En el trabajo que se ha leído ninguna de estas condiciones se cumple. Las estadísticas se for-

man con un criterio arbitrario: de un lado, 6 casos graves no tratados, con 3 muertos, á saber, 50 por 100 de mortalidad; de otro lado, 136 casos variamente tratados, con 3 muertos (?), á saber, 2'20 por 100. ¿Es posible aceptar la comparación estadística entre una proporción establecida con 6 observaciones y una segunda proporción establecida con 136? Los enfermos se someten al tratamiento sin que se nos diga exactamente si se han hecho las pesquisas necesarias para afianzar el diagnóstico clínico. Cierto es que durante los períodos epidémicos, cuando sólo se intenta oponerse al desarrollo de la enfermedad —cualquiera que sea su origen—, podemos prescindir de tales investigaciones, sin que los resultados de nuestro trabajo pierdan nada de su valor y de sus méritos, y aun al contrario, haciéndole ganar en eficacia práctica. Mas entiéndase bien que en el orden científico habremos hecho tan sólo un trabajo de aplicación, de carácter epidemiológico, y no podremos pretender que sus conclusiones tengan el valor de un ensayo biológico. Para que el trabajo empiece á tener condiciones de ensayo biológico, de investigación ú observación biológica, es menester aplicar todas las reglas, todas las normas del método experimental. Y en este caso concreto, para que el estudio de la acción del medicamento sobre el parásito alcanzase un valor positivo, era menester avalorar el diagnóstico en el período de la invasión intestinal de la triquina, con la investigación de los helmintos. Aunque no siempre se logra un resultado positivo, era necesario intentarlo.

Finalmente, la acción de los medicamentos empleados debía estudiarse en relación con todas las sucesivas fases de desarrollo del parásito, desde las primeras de fijación de las hembras fecundadas en la mucosa intestinal del huésped, hasta la última, de difusión de los embriones por la corriente circulatoria y su localización definitiva en el tejido conectivo interfascicular de los músculos. El ciclo evolutivo de la *Trichinella spiralis*, bien conocido desde hace mucho tiempo, desde los clásicos estudios de Leuckart, Virchow, Luschka y en particular de Zenker, permite tantear y ensayar los medios terapéuticos por vías distintas, con diferentes intentos, para ejercer una acción parasiticida, ya sobre los helmintos intestinales, ya sobre las hembras en el espesor de la mucosa, ya sobre los embriones durante el período de su difusión *in circulo*, ya, finalmente, cuando ya se han fijado en el tejido muscular. Nada de estas distinciones aparece en el trabajo que se acaba de leer. Creemos, por tanto, que este trabajo no se atiene á las condiciones que deben exigirse, y que la juventud estudiosa debe acostumbrarse á adoptar siempre que se emprende un trabajo de biología.

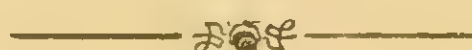
El Dr. **Mayoral**: El autor del trabajo que he tenido el honor de leer á la Sociedad de Biología, no tiene la pretensión de haber hecho un estudio biológico completo; en uno de los primeros párrafos lo califica de nota preliminar.

Creo que, aun adoleciendo el trabajo de las deficiencias que ha señalado el doctor Pittaluga, tiene una importancia capital, pues con él se da un gran paso en el tratamiento de una enfermedad contra la que hasta ahora estábamos terapéuticamente desarmados.

No porque el trabajo sea incompleto debe condenarse; al contrario, su autor es digno de los mayores elogios; ha hecho más de lo que podía, dadas las circunstancias en que se encontraba; ha abierto nuevos horizontes en el tratamiento de la triquinosis; ha obtenido un éxito, siguiendo las modernas orientaciones terapéuticas de las enfermedades parasitarias. Por esto, yo he querido dar á conocer el trabajo en esta Sociedad, para que su Boletín difunda los estudios de un clínico español y puedan ser comprobados y completados por aquellas personas que, por su especial

situación, están obligadas y les es fácil hacer lo que á otros les fué materialmente imposible.

Por último, pocos serán los investigadores que puedan calificar de completos sus trabajos; cualquier punto de la biología, por circunscrito que sea, resulta tan complejo que es casi imposible abarcarlo bajo todos sus aspectos; y si para publicar sus hallazgos espera á que el trabajo esté ultimado, se expone á que los demás se le adelanten.



La reacción del antígeno en las orinas tuberculosas

POR

SALVADOR PASCUAL



Dos métodos de laboratorio se han empleado para determinar la naturaleza tuberculosa de una lesión renal: la investigación de los bacilos de Koch en las orinas y la inoculación de éstas al cobaya. El hallazgo de bacilos de Koch en las orinas no es cosa fácil; en un tercio de casos, positivamente tuberculosos, no se los encuentra. La inoculación es método más seguro, pero tiene el inconveniente de que hay que esperar de cuatro á cinco semanas para saber el resultado. Algunos autores aconsejan inocular cobayas hembras en lactancia; otros inyectan en los vasos mesentéricos, etc.

En Julio de 1911, Debré y Paraf presentaron á la Sociedad de Biología de París una nota referente á *Una nueva aplicación de la reacción de Bordet-Gengou al diagnóstico de la tuberculosis: la reacción del antígeno*. Después, á la misma Sociedad y en sesiones sucesivas, fueron exponiendo sus resultados.

La reacción del antígeno tiene por objeto poner en evidencia, en un líquido dado, la presencia del antígeno tuberculoso por medio de la reacción de desviación del complemento de Bordet-Gengou.

No entramos en los fundamentos del método, suficientemente conocido de todos. Sabemos que el método de la desviación del complemento se emplea con resultados excelentes para el diagnóstico de la sífilis (reacción de Wassermann), del quiste hidatídico (reacción de Weinberg), etc.

El método de Debré y Paraf se diferencia de estos otros en que en aquéllos se pone en evidencia el anticuerpo, mientras que en éste es el antígeno lo que se busca; por eso le llamaron reacción del antígeno.

Justo es decir que esta investigación del antigeno tuberculoso había

sido ya hecha por Marmoreck en la sangre y en la orina de enfermos bacilares, aunque con técnica un poco diferente.

Las primeras investigaciones de Debré y Paraf fueron hechas sobre 24 orinas claras ó purulentas, 39 líquidos pleurales y ascíticos, 2 líquidos cefalorraquídeos, 12 extractos de órganos de autopsia, 1 fragmento de piel tomado del vivo y 6 líquidos serosos y purulentos de procedencias diversas.

Los resultados obtenidos en las orinas, que es el objeto de nuestra comunicación, los tomamos de los trabajos de Heitz Boyer y Chevassu, publicados en el *Journal d'Urologie* y *Presse Medicale*, respectivamente.

Poco después de la aparición de estos dos últimos trabajos, publicamos nosotros en la *Revista Clínica de Madrid*, nuestras primeras reacciones, practicadas en enfermos del Hospital Lariboisière.

En la reacción entran en juego un sistema hemolítico y un sistema bacteriolítico.

Sistema hemolítico.—Se compone de suero hemolítico anticarnero, glóbulos rojos de carnero y alexina (del cobaya).

Sistema bacteriolítico.—Para el caso que nos ocupa se usa como antígeno el suero del profesor Vallée, de la Escuela veterinaria de Alfortlle, suero muy rico en sensibilizadores y que no presenta ninguna acción complementaria. Este suero, antes de ser empleado, debe ser titulado en presencia de una emulsión de bacilos. Es preciso, además, asegurarse de que dicho suero no posee ninguna acción antihemolítica. Como antígeno usamos la orina sospechosa, que dividíamos en dos partes, según la técnica primitiva: una, que empleábamos tal como se recogía, y otra, que calentábamos varias veces á 60° para destruir las substancias capaces de impedir la hemolisis que podían contener las orinas de ciertos tuberculosos. Recientemente, los autores del método han dicho que no hay que preocuparse en la práctica de estos anticuerpos libres que pueden existir en las orinas, y que, por tanto, es inútil el calentarlas.

Las diversas titulaciones se hacen como en los demás métodos de desviación del complemento.

Técnica de la reacción.

Nos hemos ajustado rigurosamente al modo de proceder del mismo Paraf, á cuyo lado empezamos nuestras investigaciones.

Se preparan 18 tubos de hemolisis, que se dividen en dos grupos de á 9. Cada serie de estos 9 tubos se divide en tres grupos: uno de 4, otro de 4 y otro de 1, que los llamaremos grupos núm. 1, núm. 2 y núm. 3.

Grupo núm. 1.—Cada tubo contendrá=orina (*antígeno*) que será puesta á dosis creciente en cada uno de los cuatro tubos (0'2, 0'4, 0'6, 0'8) + suero tuberculoso (*anticuerpo*) á la dosis de 0'3 en cada tubo + suero de cobayo (*alexina*) á la dosis de titulación.

En cada tubo además ponemos suero fisiológico hasta completar un volumen de 3 cent. cúb. con objeto de facilitar la lectura.

Grupo núm. 2.—Este es un grupo de tubos testigos. Se ponen los mismos elementos que en el grupo precedente menos el anticuerpo; es decir, que sólo contendrá cada tubo *alexina + antígeno + suero fisiológico.*

Grupo núm. 3.—Lo constituye otro tubo testigo. Aquí sólo pondremos *antígeno + anticuerpo + suero fisiológico.*

Estos tres grupos están preparados con orina, sin sufrir ninguna manipulación.

Con la otra serie de nueve tubos hacemos exactamente las mismas manipulaciones, pero la orina que emplearemos será calentada unas cuantas veces á 60 grados.

Una vez así dispuestos los 18 tubos se los lleva á la estufa á 37 grados durante dos horas para que tenga lugar la desviación del complemento, caso de que la orina contenga el antígeno tuberculoso. Al cabo de este tiempo se les añade el sistema hemolítico compuesto de suero hemolítico anticarnero á la dosis que lo hayamos titulado y 1 cent. cúb. de glóbulos de carnero preparados (dilución á 1/20 de suero fisiológico). Nuevamente se llevan los tubos á la estufa durante quince minutos, al cabo de cuyo tiempo se puede ver el resultado.

La interpretación es como en la reacción de Wassermann. Si se trata de orina tuberculosa, la hemolisis no se presentará más que en el grupo número 2, tubos testigos sin anticuerpos. No se producirá ni en el grupo núm. 1 ni en el núm. 3. El complemento se encuentra desviado y la reacción es positiva. Si la orina no es tuberculosa, la hemolisis se producirá en el grupo número 2 y en el núm. 1, faltará sólo en el grupo núm. 3, tubo testigo sin alexina. No hay desviación del complemento y la reacción, por tanto, es negativa.

En el último artículo de Debré y Paraf preparan sólo siete tubos; tres en los que se verifica la reacción, tres testigos que no contienen anticuerpos para demostrar que el líquido que se examina no tiene acción antihemolítica, y el tubo siete, finalmente, también testigo, que demuestre que el líquido examinado no tiene poder hemolítico.

El resultado encontrado por los autores mencionados ha sido, dividido en grupos para mayor claridad, el siguiente:

1.° Estudio de 29 reacciones del antígeno con la contraprueba del examen de las piezas de operación ó de autopsia.

Estas 29 reacciones han sido hechas en 23 sujetos. En 10 de ellos, la nefrectomía ha demostrado una tuberculosis renal manifiesta, y la reacción del antígeno había sido positiva. Todos ellos, salvo uno, estaban considerados clínicamente como tuberculosos del riñón. Un caso en el cual se pensaba en una pionefrosis banal, sólo la reacción permitió descubrir la naturaleza tuberculosa.

Una sola vez el examen de la orina demostró la existencia del bacilo de Koch.

En otros cinco sujetos (seis reacciones) la reacción del antígeno fué negativa. La operación ó la autopsia demostraron que no se trataba, en estos casos, de tuberculosis.

Hay una tercera categoría de enfermos, en los cuales la reacción del antígeno y el examen de las piezas no están perfectamente de acuerdo. Comprende ocho sujetos (10 reacciones). En seis de ellos (ocho reacciones) la reacción fué positiva. En los otros dos negativa.

En los seis enfermos que dieron reacción positiva, se trataba: *a*) de un tumor pelviano (inoculación de un fragmento de él al cobaya, negativa); *b*) riñón probablemente tuberculoso (inoculación de un fragmento al cobaya, positiva, pero las orinas antes de la operación no le habían tuberculizado); *c*) una pionefrosis calculosa, pero un fragmento inoculado ha tuberculizado al cobaya; *d*) el examen histológico no prueba nada en favor de la tuberculosis; *e*) riñón que parece exclusivamente litiásico (inoculación de un fragmento al cobaya, positiva; *f*) dos casos de reacción negativa, uno de ellos, siendo probablemente una nefritis de origen tuberculoso, y en el otro se trata de un riñón que presenta finas granulaciones en su parénquima.

2.° Estudio de 15 reacciones practicadas en 10 sujetos, demostradas por los resultados, la inoculación al cobaya.

Han dado siete reacciones positivas (seis sujetos). La inoculación de las orinas al cabaya, positiva.

De las ocho reacciones negativas (cuatro enfermos), seis veces la inoculación al cobaya fué también negativa. Dos veces en el mismo enfermo la inoculación fué negativa, mientras que la reacción fué positiva.

3.° Estudio de 36 reacciones practicadas en 26 enfermos sin comprobación alguna.

En un grupo se colocan los casos indiscutibles, en otro los dudosos.

El primer grupo comprende cuatro reacciones negativas (absceso de la próstata, cistitis blenorrágica, cálculo vesical, mal de Pott) y dos positivas (dos tuberculosis renales bilaterales con tuberculosis genital).

El segundo grupo comprende seis reacciones negativas en orinas de sujetos supuestos sanos (nefrectomizados por tuberculosis del riñón

opuesto), dos reacciones negativas en una mujer con cistalgia, cuatro negativas también en tres cistitis de naturaleza dudosa, seis positivas en cinco sujetos probablemente tuberculosos, dos positivas en un enfermo sospechoso de tuberculosis renal, y 10 reacciones positivas de un riñón y negativas del otro en cinco enfermos que rechazaron la intervención.

De modo que, en definitiva, la totalidad de las reacciones hechas en Necker da por resultado:

44 reacciones con el *control* de la operación ó la autopsia, de las cuales 37 exactas, cuatro no demostradas y tres probablemente inexactas.

36 reacciones sin contraprueba alguna.

Han estudiado, además, 19 casos de enfermos tuberculosos crónicos con síndrome de nefritis hidropígena. Cuando este síndrome es de naturaleza tuberculosa, la resección es positiva. De 19 casos de éstos, 16 veces la reacción fué positiva; de estos 16, 12 dieron inoculación positiva el cobaya.

Nosotros hemos practicado la reacción en 36 enfermos, que se dividen así:

	Enfermos.	ANTÍGENO	
		Positiva.	Negativa.
Tuberculosis renal, comprobada en la operación ó por la inoculación..	14	9	5
Tuberculosis renal sin comprobación	11	9	3
Neoplasmas de vejiga	3	—	3
Incontinencia esencial de orina	4	—	4
Albuminuria	2	1	1
Cistitis banales	2	1	1

Claro es que el número de reacciones por nosotros practicadas han sido más de 36, pues en bastantes enfermos la hemos repetido y en otros hemos hecho la reacción separadamente con la orina de cada riñón.

En nuestras manos la reacción no ha dado tan buenos resultados como en la de los autores. El caso más interesante que tenemos se refiere á un hombre sospechoso de tuberculosis renal, pero en el que la radiografía demostraba la sombra de un cálculo. En la operación se comprobó que aquella sombra era debida á un bloque caseoso de naturaleza tuberculosa. Nos había dado reacción positiva.

En cambio, en una mujer claramente tuberculosa, con inoculación positiva al cobaya, el resultado fué negativo. Quizás alguna falta de técnica, pues fué de las primeras reacciones que practicamos, sea la responsable del fracaso.

Finalmente, hemos practicado la reacción en cuatro enfermos de incontinencia y en dos de albuminuria. Sabido es que modernamente se tiende á considerar á estos enfermos como portadores de lesiones tuberculosas y los describen como casos de *tubérculo-bacilias*. Los autores que defienden estas ideas, entre otros Keersmaeker y d'Haenens, piensan que una infección por el bacilo de Koch puede provocar una inflamación simple sin carácter específico que evolucione hacia la esclerosis, sin formación de tubérculos. Esta inflamación sería debida á la presencia del bacilo de Koch en el interior de los tejidos mismos. Todos estos tubérculo-bacilias reaccionan á la tuberculina de Koch y son favorablemente influenciados por el tratamiento tuberculínico.

Los tubérculo-bacilias renales se diagnostican por diferentes medios, muy claramente expuestos por dos autores españoles (Tánago y Pedraja) en la *Revista Clínica de Madrid*, del 1911.

Nosotros hemos tenido la idea de aplicar la reacción del antígeno al diagnóstico de estos casos, con resultado, como se ha visto, poco brillante, pues en seis de estos enfermos sólo hemos tenido un resultado positivo.

Debré y Paraf han sido más afortunados que nosotros, pues en un artículo reciente, bastante posterior al nuestro, dan cuenta de siete enfermos con albuminuria; en cuatro de ellos la reacción fué positiva y en tres negativa. De los casos positivos, cuatro fueron comprobados por la inoculación positiva al cobaya.

Nosotros pensamos, para terminar, ensayar la reacción en enfermos tuberculosos crónicos, sin lesiones específicas á nivel de las vías urinarias. En estos casos, los autores dicen que da resultado negativo.

En resumen, es un método que debe entrar en la práctica del laboratorio junto con los otros métodos de desviación de complemento.

BIBLIOGRAFÍA

Debré et Paraf: Comptes rendus de la Société de Biologie de París. Séances des 8, 22, 29 Juillet y 23 Octobre 1911.

— La reaction de l'antigéne appliquée à l'etude de certains syndromes néphretiques. *Comptes rendus de la Société de Biologie de París.*

— Technique modifiée de la reaction de l'antigéne. *Comptes rendus de la Société de Biologie de París*, 31 Janvier 1914.

Marmoreck: Diagnostic de la tuberculose par le methode de la desviation du complement. *Presse Médicale*, 6 Janvier 1909.

Tánago y Pedraja: Resultados obtenidos en el tratamiento de la albuminuria ortostática y de la incontinencia de orina infantil, considerados como tubérculo-bacilos. *Revista Clínica de Madrid*, 1 Diciembre 1911.

Pascual: Contribución al estudio de la reacción de Debré y Paraf en la tuberculosis renal *Revista Clínica de Madrid*, 15 Mayo 1912.

Las variaciones de la colesterinemia en la viruela

POR

G. MARAÑÓN y P. VARILLAS

Nos hemos valido para llevar á cabo esta investigación del método colerimétrico de Grigaut, de cuyas ventajas habló en una de las pasadas sesiones el Dr. Carracido (1). En el curso de nuestros análisis hemos podido comprobar una vez más la sencillez y la exactitud de esta técnica, cuyos detalles no hemos de repetir ahora.

La colesterina interviene verosímilmente, de una manera muy fundamental, en los fenómenos humorales de la lucha contra las infecciones. Por eso tiene excepcional interés biológico y práctico, el estudio del ciclo colesterinémico en el curso de los procesos infecciosos. Grigaut (2) ha determinado este ciclo en la escarlatina, el sarampión, la pneumonía, el reumatismo agudo, la escarlatina y, sobre todo, en la fiebre tifoidea, en la que siguen un curso muy interesante las cifras de la colesterina del suero. Nosotros hemos escogido la viruela, por ser una infección cuyos procesos reaccionales son poco conocidos, y al mismo tiempo presenta un ciclo muy limitado y fijo.

Hemos aprovechado los casos de la Clínica de enfermedades infecciosas del Hospital General, á cargo nuestro, en la que hemos asistido la pequeña epidemia (pequeña para lo que es uso entre nosotros) que todos los inviernos recrudece la enfermería habitual de esta infección.

Casos observados: 21. De ellos 14 eran confluentes y siete viruela discreta.

En total hemos hecho 50 determinaciones de la colesterina en los distintos períodos del mal:

Período de erupción-vesiculación	10	observaciones.
— de supuración	21	—
— de desecación	10	—
— de convalecencia	9	—

En el período eruptivo puro no hemos logrado recoger ninguna observación, pues todos los casos llegan á la Clínica un poco avanzados, en

(1) Carracido, Madinaveitia y Varillas: *Determinación cuantitativa de la colesterina en la sangre*. Sociedad Española de Biología.—Enero, 1914.
(2) Grigaut: *Le cycle de la cholesterinemie*. — París, 1913.

los días en que la erupción empieza á ser sustituída por las vesículas. Por eso consideramos en conjunto ambos períodos.

He aquí el resumen de los resultados obtenidos:

	Máxima.	Mínima.	Media.
Erupción-vesiculación	1'50	1'18	1'30
Supuración	1'50	0'62	1'10
Desecación	2'00	1'18	1'50
Convalecencia	2'85	1'32	1'80

Si consideramos las cifras precedentes, vemos que tanto las máximas como las mínimas, como las cifras medias, marcan todas un ciclo cons-

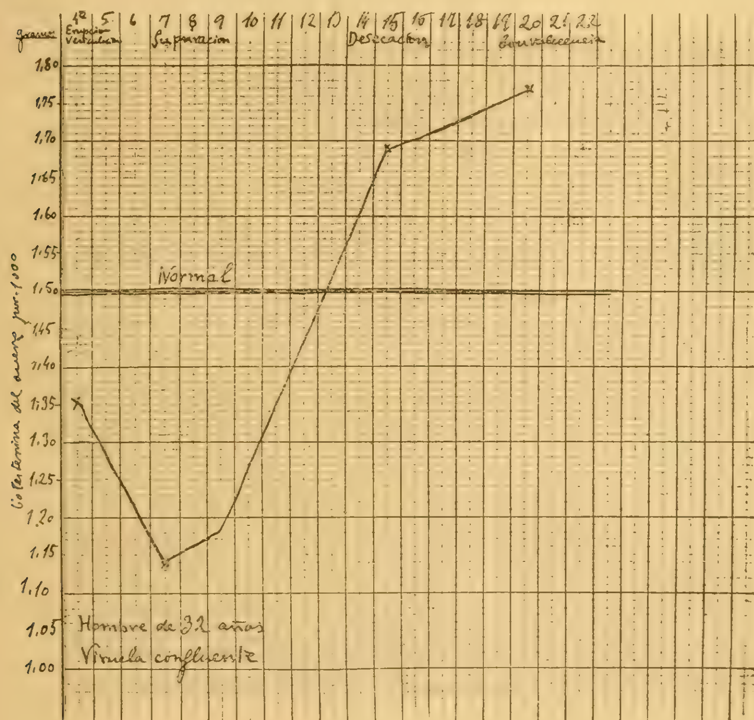


Fig. 1. — Variaciones de la colesterinemia en un caso de viruela confluente.

tante: *la colesterina del suero sanguíneo desciende desde el principio de la infección hasta el final del período de supuración, y á partir de este punto, aumenta hasta la convalecencia.*

Considerando como cifra normal 1'50 (aunque la colesterina del suero normal sufre amplias variaciones) vemos que, en general, la hipocoles-

terinemia de los períodos de erupción, vesiculación y supuración no es muy profunda, salvo en ciertos casos; y en cuanto á la hipercolesterinemia de la desecación y convalecencia, tampoco es extraordinariamente elevada.

Esta curva descrita, obtenida con las cifras medias de todas las observaciones, se reproduce exactamente en cada caso, con una constancia tan grande, que, á nuestro juicio, es lo más interesante de cuanto hemos observado.

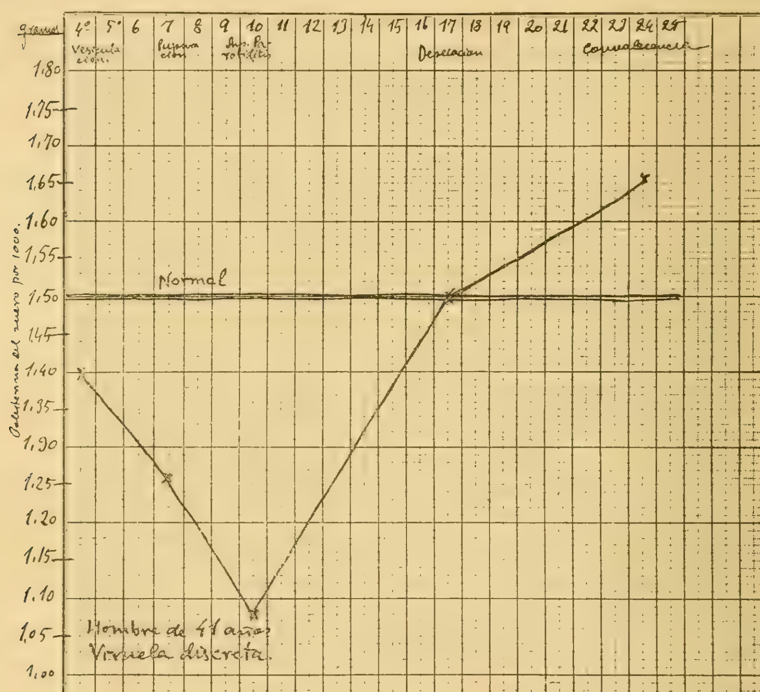


Fig. 2. — Variaciones de la colesterinemia en un caso de viruela discreta.

Reproducimos dos curvas de dos casos de viruela, una grave y otra discreta, y la curva de las cifras medias; fácilmente se observará su coincidencia.

El aumento brusco de la colesterina coincide precisamente con esos días del final de la supuración, en los que la enfermedad hace una verdadera crisis. No es raro observar que enfermos gravísimos, que parece que no van á poder transponer el período supuratorio, casi repentinamente, de un día á otro, se encuentran mejor subjetiva y objetivamente, desaparece la fiebre y rápidamente se desecan sus pústulas. Pues bien, *con esa crisis clínica coincide la subida de la colesterinemia.* Una curva

parecida ha obtenido Grigaut en la pneumonía, si bien en ésta la subida parece menos brusca y va seguida de un descenso que no se observa en la viruela; en ésta, como hemos visto, persiste, acentuándose, la hipercolesterinemia, aunque sin alcanzar las cifras elevadas de la hipercolesterinemia post-tifoídica, descrita por Grigaut.

Esta relación de las cifras obtenidas en la dosificación de la colesterina con los fenómenos clínicos, parece *á priori* que le da un cierto significado para el pronóstico; he aquí nuestras observaciones sobre este punto.

Las cifras medias indican que *el descenso de la colesterina sanguínea es proporcional al tipo de gravedad de la viruela, es decir, que en la viruela confluente el descenso es mayor que en la viruela discreta.*

Cifras medias.

	Erupción-vesiculación.	Supuración.	Desecación.	Convalecencia.
Confluente..............	1'30	1'15	1'51	1'83
Discreta.................	1'40	1'13	1'65	2'00

El cuadro precedente demuestra claramente nuestra afirmación.

En cambio, en cada caso, el que baje mucho la cifra de colesterina no es indicio de mal pronóstico. Véanse como ejemplo los cuatro casos siguientes: en dos enfermos de viruela discreta, la colesterina descendió durante el período de supuración á 0'62 y 0'98, respectivamente; á pesar de esta considerable baja, en los días siguientes subió rápidamente la colesterinemia y nada alarmante ocurrió en el sentido clínico; en cambio, en los mismos días, en otros dos enfermos de viruela confluente las cifras de colesterina eran, respectivamente, 1'14 y 0'95. En el primero de estos dos casos se salvó trabajosamente el enfermo; en el segundo caso, la terminación fué fatal.

Lo que sí tiene importancia positiva es, no una cifra baja aislada, sino la marcha de la colesterinemia. Y así, en el caso de viruela discreta, con 0'62 de colesterina, á los dos días, había subido á 1'45, y cuatro días después á 2'1. Mientras que en el caso de viruela grave, que por la misma fecha tenía 0'95, esta cifra se mantuvo en los días siguientes, se elevó luego sólo hasta 1'10 y volvió á descender á 0'90 en esos momentos críticos, que aquí faltaron, sobreviniendo la muerte.

Las complicaciones de la viruela febriles (parotiditis, abscesos, etc.), hacen descender aún más la cifra de la colesterina. En cambio, la nefri-

tis post-variolosa, que con tanta frecuencia observamos, no parece alterar la colesterinemia: en un caso con nefritis gravísima, la colesterina osciló alrededor de 1'30 (convalecencia).

* * *

En un cierto número de casos hemos emprendido otra investigación, de la que damos sólo los resultados preliminares. Se trata de un punto de la mayor importancia doctrinal. Grigaut supone que, siendo las glándulas suprarrenales uno de los más importantes focos productores de la

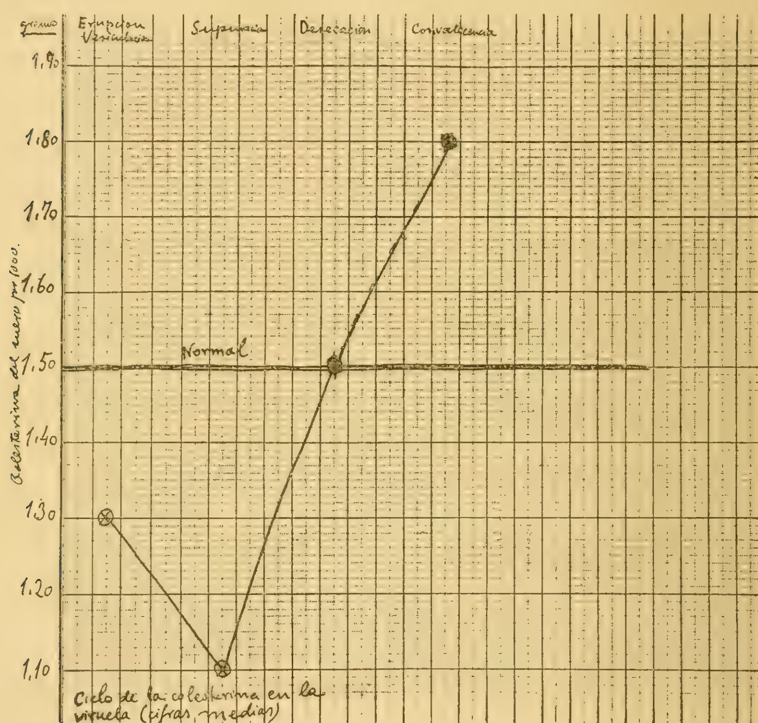


Fig. 3. — Marcha de la colesterinemia en la viruela (cifras medias).

colesterina endógena y atravesando dichas glándulas un estado hipofuncional durante la infección, es verosímil admitir que la hipocolesterinemia observada durante el período álgido de las infecciones se deba precisamente á esa insuficiencia suprarrenal. Nosotros hemos tratado de averiguar si, á la vez que la hipocolesterinemia, se podía demostrar en esos casos una hipoadrenalinemia, ya que la adrenalina constituye la principal secreción de las suprarrenales, y, por lo tanto, el más seguro índice de su estado funcional. Teóricamente pudiera suponerse que am-

bas secreciones — adrenalina y colesterina — se comportaban paralelamente; pero los resultados obtenidos demuestran que no ocurre realmente así. He aquí los casos observados:

Observaciones.	TIPO DE LA ENFERMEDAD	PERÍODO	ESTADO GENERAL	ADRENALINA	COLESTERINA
I...	Discreta.....	Desecación...	Bueno...........	+ (normal).	1'45 (casi normal)
II...	Confluente..	Supuración...	Grave...........	— (hipo)....	1'32 (hipo).
		Desecación. .	Bueno...........	— (hipo)....	1'65 (hiper).
III..	Confluente...	Supuración...	Grave...........	+ (normal).	1'14 (hipo).
IV..	Confluente...	Vesiculación.	Muy grave.......	+ (normal).	1'32 (hipo).
		Supuración...	Muy grave.......	— (hipo)....	1'10 (hipo).
		Supuración...	Muy grave. Muerte	— (hipo)....	0'95 (hipo).
V...	Discreta.....	Supuración...	Bueno...........	— (hipo)....	1'20 (hipo).
		Desecación...	Bueno...........	+ (normal).	1'95 (hiper).
VI..	Discreta. Nefritis.	Desecación...	Grave...........	+ (normal).	1'31 (hipo).
VII.	Discreta.....	Supuración...	Bueno...........	+ (normal).	1'50 (normal).

Sin más comentarios queda demostrado en el cuadro precedente que la adrenalinemia y la colesterinemia no evolucionan paralelamente en el curso de la infección.

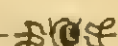
¿Qué explicación tiene este hecho? En primer lugar debemos reconocer que, mientras las cifras referentes á la colesterina tienen el valor que las da el método, perfectamente científico y comprobado, con que se han obtenido, los datos referentes á la adrenalina se han obtenido según la técnica de Ehrmann (midriasis sobre el ojo de la rana enucleado), que, aun siendo, según nuestra práctica, el preferible entre todos los propuestos, está sujeto á varias causas de error doctrinales y á las imperfecciones de la apreciación, ya que su valor cuantitativo se puede apreciar sólo por comparación con términos variables para cada experiencia.

Pero, además, aun dando por buenos los datos de la adrenalina, hay que tener en cuenta que la adrenalina y la colesterina son elaboradas por dos porciones distintas de la glándula, la cortical y la medular, respectivamente, de suerte que puede imaginarse una independencia entre sus respectivas alteraciones, de la misma manera que elaborando la pepsina y el ácido clorhídrico, regiones distintas de la mucosa gástrica, se puede concebir que un proceso patológico se limite á una ú otra de dichas regiones, y, por lo tanto, el trastorno del jugo gástrico afecte preponderantemente á la pepsina ó al ácido clorhídrico.

En otras enfermedades pensamos continuar esta investigación, cuyos

resultados son importantes, porque pueden llegar á demostrar que la secreción interna de cada órgano endocrino se compone de varios elementos, y que las alteraciones cuantitativas pueden referirse á todos ó sólo á parte de dichos elementos, resultando un número muy grande de combinaciones, á cada una de las cuales corresponda quizá un distinto cuadro clínico. El debatido problema de la *disfunción*, en la Patología endocrina, tal vez reciba una explicación por este lado.

(Laboratorio de Medicina Legal de la Universidad de Madrid. Director: Dr. Maestre).



Examen del metabolismo en cuatro epilépticos (1)

POR

RUDOLF ALLERS (Munich) y JOSÉ M. SACRISTÁN

Es sabido — como en la literatura sobre este asunto se consigna — que, indudablemente, existen en la epilepsia esencial trastornos del metabolismo de la albúmina, así como del nucleínico, en los intervalos libres de ataques. Nada sabemos, sin embargo, de su naturaleza íntima, y nada tampoco podemos decir respecto de su lugar en el cuadro de la enfermedad, de su papel en la patogenesis y de su especificidad ó no especificidad. Especialmente encaminados á la aclaración de este último punto han sido llevados á cabo los exámenes objeto de esta comunicación. Aunque su número es pequeño para deducir conclusiones cerradas, creemos, sin embargo, poder deducir algunas, que, por una parte, confirman los trabajos de otros autores, y por otra, contribuyen á ampliarlos.

Nuestro material de estudio consistió en cuatro casos : dos de epilepsia esencial, uno de epilepsia alcohólica y otro de epilepsia traumática.

Caso 1.° — *Epilepsia esencial* (2). — Se examinó el metabolismo de este enfermo durante once días; su peso al principio del examen era de 65'5 kilogramos. Recibió una alimentación libre de purinas, relativamente rica en N, que contenía 13'2 gramos. En la tabla I se anotan : la canti-

(1) Este trabajo se publicó en la *Zeitschrift f. d. ges. Neurol. u. Psych.* Orig. Bd. XX, H. 3, y se llevó á cabo en el Laboratorio químico de la Clínica de Psiquiatría de la Real Universidad de Munich.

(2) Véase nuestro trabajo completo; en él se detallan las historias clínicas, así como otros muchos puntos importantes que omitimos en este lugar.

Tabla I.

Día del examen.	Peso del cuerpo.	Cantidad de orina (24 h).	Líquido ingerido.	N. Total.	N. Urea.	+ $\frac{100\text{-}U\text{-}N.}{N\text{-}Total.}$	$N\text{-}NH_3$.	$\frac{100\text{-}NH_3\text{-}N.}{N\text{-}Total.}$	N-Amino-ácidos	$\frac{100\text{-}NH_2\text{-}N.}{N\text{-}Total.}$	Observaciones.
1	65'5	1600	750	12'6780	10'8270	85'4	0'1521	1'20	0'2662	2'1	
2	65'4	1450	750	12'0056	10'3248	86'0	0'1213	1'01	0'2641	2'2	
3	65'5	1500	600	10'4562	8'9523	86'0	0'1265	1'21	0'1987	1'9	
4	65'3	1650	600	13'7005	11'2344	82'0	0'1486	1'05	0'3562	2'5	
5	65'8	1230	500	12'8863	10'9791	85'2	0'1546	1'20	0'2577	2'0	
6	66'0	1100	500	11'9222	10'0862	84'6	0'1898	1'60	0'2265	1'9	
7	66'0	1590	750	10'8436	9'0978	83'9	0'1975	1'82	0'2169	2'0	
8	65'8	1350	750	10'9500	9'1542	83'6	0'1916	1'75	0'2519	2'3	
9	65'7	1200	600	13'5728	11'5912	85'4	0'1764	1'30	0'2443	1'8	
10	65'5	1200	600	14'6484	11'9824	81'8	0'2549	1'74	0'4395	3'0	
11	65'5	1250	600	10'9336	9'2936	85'0	0'1367	1'25	0'2187	2'0	

dad de orina, el líquido ingerido con la alimentación prescrita, el N total (Kjeldahl) y los valores absolutos y relativos de la urea (Pflüger-Bleibtren), NH_3 y amino-ácidos (Frey y Gigon). En la tabla II, el ácido úrico y las bases púricas (Krüger y Schmidt) y la creatinina (colorímetro de Autenrieth-Königsberger).

La orina reaccionó siempre ácida. No contenía ni albúmina ni azúcar. La tabla I nos dice : que el enfermo era incapaz de establecer el equilibrio del N, que no puede hablarse de un aumento absoluto ni relativo de NH_3 y que la urea transcurre dentro de los límites normales. En el noveno día con balance de N negativo, hay un valor por ciento alto de urea. En este caso no puede tratarse de una destrucción de los albuminoides del organismo, sino de la entrega del material nitrogenado exógeno retenido, pues la desintegración albuminoidea endógena (1) se acompaña de valores relativos bajos de urea. Un argumento en pro de este modo de pensar lo proporciona la determinación del S. La desintegración de la albúmina endógena provoca un aumento de los valores relativos de la fracción del S neutral, mientras que la exógena aumenta la fracción de sulfato. No encontramos aumento del S neutral. Allers (2) ya demostró que en los epilépticos falta el aumento de dicha fracción, en contra de Kauffmann.

Los valores relativos de la fracción de N titulable por el formol son altos en los días de fuerte eliminación de N. Se sabe muy poco de las substancias contenidas en esa fracción para emitir interpretaciones.

La curva de la creatinina se mueve dentro de los límites normales. Encontramos un nuevo argumento á favor de nuestra primera idea sobre el origen de la hipereliminación del N, en que los días de mayor eliminación de N, la creatinina permanece sin experimentar el más ligero aumento. Sabemos por Folin que el cambio albuminoideo endógeno se acompaña de un aumento relativo de creatinina.

La eliminación de las purinas totales es absoluta y relativamente baja. Los aumentos del N total no se acompañan de movimientos semejantes de la eliminación purínica. Teniendo en cuenta la carencia de purinas en la alimentación, descúbrese aquí, aún, una nueva prueba sobre el origen exógeno del N hipereliminado. Claro es, que no puede concederse una gran fuerza demostrativa á este argumento. Pero lo contrario, es decir, un movimiento parejo del N de la orina y de la curva purínica, sí hablaría en favor de un origen endógeno del N.

(1) *Allers:* Untersuchungen über den Stoffwechsel bei den progresive Paralyse. *Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych.* Bd. XVIII, pág. 1.
(2) *Allers: Journ. f. Psychol. u. Neurol.* Bd. XVI, 1910.

Tabla II.

Día del examen.	Cantidad de orina.	N-Total.	N-Ácido úrico.	N-Bases purínicas.	N-Purina total.	$\frac{100.\text{-}\overline{U}\text{-N.}}{\text{N-Total.}}$	$\frac{100\text{-Bases-N.}}{\text{N-Pur.}}$	Creatinina.	$\frac{100\text{-Cr-N.}}{\text{N-Total.}}$
1	1600	12'6780	0'1045	0'0230	0'1275	1'00	22'0	0'6320	4'9
2	1450	12'0056	0'0781	0'0100	0'0881	0'73	12'8	0'6065	5'0
3	1500	10'4562	0'0936	0'0126	0'1056	1'00	13'4	0'6000	5'7
4	1650	13'7005	0'1108	0'0120	0'1228	0'89	10'8	0'6114	4'4
5	1230	12'8863	0'0871	0'0104	0'0975	0'75	11'9	0'5886	4'5
6	1100	11'9222	0'0819	Perdida.	—	—	—	0'5682	4'8
7	1590	10'8436	0'0800	0'0095	0'0895	0'84	11'8	0'6020	5'5
8	1350	10'9500	0'0798	0'0074	0'0872	0'79	9'2	0'5491	5'0
9	1200	13'5728	0'0903	0'0086	0'0989	0'72	9'5	0'6400	4'7
10	1200	14'6484	0'0924	0'0093	0'1017	0'68	10'6	0'6338	4'3
11	1250	10'9336	0'0845	0'0088	0'0933	0'84	10'4	0'5200	4'7

Tabla III.

Día del examen....	Cantidad de orina.	N-Total.	N-Ácido úrico.	N-Bases.	N-Purinas totales.	100·P·N / N·Total.	100·B·N / Pur·N.	Observaciones
1	1320	12'3560	0'0860	0'0094	0'0954	0'77	10'9	
2	1400	13'5734	0'2485	0'0210	0'2695	1'98	8'4	
3	1460	13'9688	0'3061	0'0544	0'3605	2'58	17'8	20 grs. de nucleinato sódico.
4	1280	12'1145	0'3108	0'0520	0'3628	2'99	16'7	

La tabla III se refiere á un breve examen del metabolismo purínico exógeno. Se suministró al enfermo para este objeto 20 gramos de nucleinato sódico (Merck), que, según un análisis de Allers, contienen 2'696 gramos N. De la conducta de la eliminación del N, en el segundo y tercer día, resulta, que la cantidad ingerida se reabsorbió y fué eliminada sin dejar resto. Los 20 gramos de nucleinato contienen, próximamente, 0'7 gramos de N purínico. La hipereliminación alcanza, si se sustrae de la suma de los valores del segundo hasta el cuarto día el valor del primero, 0'7068 gramos de N, cifra que está acorde con la marcha del N de la orina. La eliminación del N purínico exógeno termina al tercer día después de la ingestión del nucleinato; está, pues, en cierto modo retardada. Además ascienden los valores relativos de las bases aunque no son demasiado altos. Así, pues, una parte de los cuerpos purínicos exógenos no se transforma completamente en ácido úrico. El aumento del N de las bases alcanza en total 0'118 gramos; se eliminaron, pues, del N purínico exógeno en forma de bases, en números redondos, 17 por 100. Este valor hállase fuera del límite fisiológico y se le considera como anormal. *En resumen, en este caso se observaron oscilaciones espontáneas de la eliminación del N, que según la marcha de la urea, del azufre, de la creatinina y de los cuerpos purínicos, debe relacionarse con retenciones y eliminaciones del material nitrogenado exógeno. La eliminación purínica endógena es baja, la exógena está retardada y alterada cuando se eliminan relativamente más bases.*

Caso 2.º — *Epilesia esencial.* — El examen del metabolismo duró veinticinco días con una pausa de tres. El enfermo recibió desde el séptimo día del examen una alimentación libre de purinas, y que contenía 15'5 gramos de N; el peso del cuerpo era al principio del examen de 35'5 kilogramos, al final de 38'5.

Tabla IV.

Día del examen	Peso del cuerpo.	Cantidad de orina.	N-Total.	N. Amoníaco.	N-Amino-ácidos.	°/₀ NH_3N.	°/₀ NH_2N.	N-Acido úrico.	N-Bases.	N-Purina.	°/₀ Bases N.	°/₀ Purina N.	Observaciones.
1	37'5	1100	14'3790	~	~	~	~	0'3517	0'3440	0'6957	47'1	4'8	
2	37·5	1100	14'3220	~	~	~	~	0'3522	0'3484	0'6956	50'0	4'8	
3	37·5	960	12'4920	~	~	~	~	0'3107	0'2989	0'6096	49'0	4'8	
4	37·7	1250	16'2570	~	~	~	~	0'3545	0'3880	0'7425	52'2	4'5	
5	37'8	1510	17·5333	1'9158	0'0634	10'9	0'4	0'4853	0'4710	0'9563	47'1	5'4	
6	38'2	1400	18'0408	1'8109	0 0686	10'0	0'3	0'4469	0'4341	0'8810	49'2	4'5	
7	38'0	1090	14'0849	~	~	~	~	0'0702	0'0175	0'0877	19'9	0'6	
8	38'0	1200	14'9232	1'6094	0'0504	10·7	0'3	0'0823	0'0239	0'1062	22'6	0'6	
9	37'8	1350	17'4069	1'8383	0 0756	10'0	0'4	0'0794	0'0369	0'1163	34'0	0'6	
10	37'8	1230	15'9285	1'6787	0'0516	10'5	0'3	0'2698	0'0518	0'3216	16'1	2'0	
11	37'8	1250	16'1877	1'6975	0'0525	10'4	0'3	0'0984	0'0132	0'1116	11'8	0'6	
12	37'8	1100	14'2604	1'3530	0'0462	9'4	0'3	0'0771	0'0924	0'1695	54'5	1'1	
13	37'9	1200	14'7238	1'7727	0'0546	12'0	0'3	0'1027	0'0182	0'1209	15'0	0'8	
17	38'2	1260	15'0284	1'6185	0 0529	10'4	0'3	0'7067	0'0121	0'7088	1'7	4'7	
18	38'4	1200	13'4736	1'6238	0'0504	12'1	0'3	0'1086	0'0155	0'1241	12'4	0'8	
19	38'5	1680	19'0982	1'5553	0'0722	8'1	0'3	0'0942	0'0104	0'1046	9'9	0'5	
20	38'7	760	8'6397	~	~	~	~	0'0655	0'0101	0'0756	13'3	0'8	
21	38'5	1400	11'4072	1'9051	0 0588	16'7	0'5	0'0888	0'0166	0'1054	15'7	0'9	
22	38'5	1220	11'6677	1'6705	0'0512	14'3	0'4	0'0810	0'0094	0·0904	10'3	0'7	
23	38'5	1200	10'1136	1'9064	0'3352	18'7	3'3	0'0709	0'0127	0'0836	15'1	0'8	10 gr. de nucleinato sódico.
24	38'5	1100	19'6042	0'8437	0'1931	4'3	0'9	0'2242	0'0134	0'2376	5'6	1'2	
25	38'5	1200	12·4488	0'3410	0'1857	2'7	1'5	0'1139	0'1387	0'2486	55'7	1'9	

La tabla IV nos indica: que en este enfermo existe la misma marcha irregular del N, descrita por los autores y observada en el caso precedente. Encontramos un nuevo punto de apoyo para la retrotracción de las causas de la eliminación irregular del N al material nitrogenado exógeno, en la marcha del NH_3. Su valor está muy elevado. Sus valores por 100 son constantes; el movimiento de su curva marcha paralelamente con el del N total. Si en el cambio albuminoideo endógeno la relación $\frac{NH_3}{N\ total}$ cambia á favor del primero, una hipereliminación de N acarrearía un aumento relativo del NH_3; ambas curvas no debían marchar paralelas, sino converger en las cimas.

Los valores del amino N son bajos, sin que podamos decir por qué. Las determinaciones fueron siempre dobles. Habla en contra de un error de técnica la constancia de los valores por 100. No sabemos qué substancias constituyen esta fracción del N titulable por el formol (1), volvemos á repetirlo.

Nos contentaremos con registrar aquí la cifras anormalmente bajas encontradas en este enfermo.

La cantidad de bases purínicas eliminada durante el período de arribo purínico exógeno es patológicamente alta, oscilando los valores por 100 entre 47 y 52 por 100. La mitad, aproximadamente, del N purínico aparece en forma de bases, mientras que normalmente alcanza sólo un 12 por 100. Desde el comienzo de la alimentación libre de purinas (día séptimo), descienden los valores por 100 de las bases, permanecen sobre la normal y en el día doce llegan á un máximo de 54'5 por 100. Para el cálculo de la eliminación purínica nos serviremos de los días dieciocho al veintidós, que nos dan un valor medio de 0'1000 gramos. La eliminación purínica es baja. En el día de la administración del nucleinato no se observó aumento ninguno; en los días siguientes se eliminaron 0'4862 gramos; por consiguiente, 0'2862 más. Se eliminaron, pues, de los 0'35 gramos de N purínico que contienen los 10 gramos de nucleinato, en cifras redondas, 80 por 100. En el primer día de hipereliminación aparece el N purínico casi en forma de ácido úrico, mientras que en el segundo se elimina más de la mitad en forma de bases. Semejante es el período de paso de la alimentación purínica á la libre de ellas. La eliminación purínica desciende en seguida, mientras las bases permanecen relativamente altas; es decir, el ácido úrico exógeno se elimina pronto, mientras las bases de la purina exógenas son retenidas y se eliminan poco á poco. Resulta eminentemente importante la determinación del metabolismo nucleínico

(1) Véase sobre este asunto el trabajo de Kempner. *Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych.*, 1912.

de los epilépticos, y claramente se ve aquí que poco puede obtenerse de los valores aislados de ácido úrico.

Resumiendo: existía en este enfermo una impotencia para establecer el equilibrio del N, verosímilmente relacionada con el recambio albuminoideo exógeno y un aumento absoluto y relativo del NH_3 de causa desconocida. La eliminación purínica endógena es baja y las bases muestran una tendencia á mantenerse sobre la normal fisiológica y, finalmente, un retardo de la disminución purínica exógena, correspondiente á las bases que se presentaban en cantidad extraordinariamente aumentada.

El metabolismo en los dos casos restantes: el primero un caso de *psicosis de Korssakoff* con ataques epilépticos, y el segundo un caso de *epilepsia traumática*, transcurrieron dentro de los límites normales.

* * *

Tanto de nuestros resultados como de los obtenidos por los demás autores, podemos deducir un hecho interesante: que hay casos de epilepsia esencial, quizás todos, en los cuales existe una incapacidad para fijar el equilibrio del N, dependiente, en apariencia, de retenciones y entregas de material nitrogenado exógeno, como admitió Rohde.

El recambio purínico endógeno está alterado á veces, apareciendo, relativamente, demasiado N purínico en forma de bases. Más alterado aparece el metabolismo nucleínico exógeno. Se caracteriza esta alteración por un retardo de la eliminación purínica exógena y un cambio del cociente $\frac{\text{Bases}}{\text{Acido úrico}}$ á favor de las primeras.

La identidad de las alteraciones post-paroxísticas en los ataques convulsivos de distinta etiología nada prueban contra la existencia de alteraciones específicas del metabolismo, pues aquellas alteraciones son sólo expresión del trabajo motor durante el insulto epiléptico.

Tampoco puede decirse hoy nada sobre el lugar de las alteraciones del quimismo observado en el cuadro de la epilepsia esencial.

La semejanza externa del cambio del N en la parálisis general y en la epilepsia podía dar lugar á una conclusión falsa; podía admitirse que la enfermedad cerebral difusa provoca en ambos casos el fenómeno de la eliminación irregular del N; pero análisis más exactos nos han permitido reconocer que estos fenómenos no son de ningún modo iguales, sino la expresión de procesos completamente distintos. Una influencia de la enfermedad central es, en efecto, posible, pero demostrable con el material de que hoy disponemos.

Una nueva interpretación del fenómeno de Arthus gangrenoso

POR

ANTONIO PIGA

Es un hecho conocido que si se inyecta á un conejo suero de caballo, por vía subcutánea, dejando entre las inyecciones un intervalo de seis días, á la cuarta inyección se desarrolla un infiltrado blando que persiste dos ó tres días; á la quinta inyección el infiltrado es más duro y más persistente; á las siguientes aparece una gangrena local. En esto consiste el fenómeno de Arthus grangrenoso, que, conjuntamente con el de Theobald Smith y otros, constituye el grupo de fenómenos denominados anafilácticos ó de hipersensibilidad.

Muy recientemente se han descrito bastantes casos del citado fenómeno de Arthus, coincidiendo los autores en que para presentarse se necesitan determinadas condiciones, entre las cuales figuran las siguientes: 1.ª, que el individuo anafilactizado haya tenido alguna fiebre eruptiva, próxima al momento en el que sufre el choque anafiláctico; 2.ª, que presente una difteria en evolución; 3.ª, que se le haya sometido á inyecciones de suero antidiftérico.

Prescindiendo de que el fenómeno de Arthus experimental se separa notablemente del fenómeno de Arthus clínico, creo que todavía cabe una nueva interpretación, aparte de la de anafilaxia, que nos permite cierta orientación en asunto como el que nos ocupa, tan embrollado como mal conocido.

Empezamos por no saber á qué atenernos respecto de la patogenia de la anafilaxia. Todas las teorías hasta ahora presentadas (Richet, Besredka y Steinhard, Wheeler, Wright, Gay y Southard, Nicolle, Delanoe, Pozerski, Turró, Friedberger, etc.) tienen su punto vulnerable, resultando insuficientes para explicar todo cuanto sucede en ese curioso estado llamado anafilaxia. Y por ende, la multiplicidad de explicaciones — albuminolisis del producto inyectado, embolia capilar por aglutinación de bacilos, liberación de la endotoxina de Pfeiffer por la destrucción bacilar, acción de la anafilotoxina, autolisis del tejido nervioso, apotoxina, etcétera — hace que todas ellas dejen una estela de duda en nuestro espíritu y que la crítica encuentre motivos bastantes para no aceptar sin reparos una de ellas en particular.

En mi opinión, el fenómeno de Arthus no es siempre un fenómeno de anafilaxia ó, por lo menos, puede producirse en condiciones distintas de las requeridas para considerarle como tal. Para demostrarlo me baso en un hecho observado por mí y en algunos experimentos de laboratorio que, aun no considerándolos como definitivos, nos permiten hasta la fecha corroborar las presunciones apuntadas.

El hecho es el de haber determinado el fenómeno de Arthus en un tuberculoso, sin más que ponerle una sola inyección de agua esterilizada salada al 7 por 1.000 y gelatinizada al 4 por 100. La infiltración determinada por el líquido inyectado en la pared lateral del tórax se convirtió en una placa gangrenosa bordeada de zonas equimóticas, avanzando unas y otras mientras duró la vida del inyectado, que fué cosa de doce horas después de aparecer la gangrena, y veinticuatro horas de haber penetrado en el tejido celular subcutáneo el suero gelatinizado.

Para la interpretación de este hecho tenemos por una parte la anafilaxia, de exhuberante riqueza explicativa, y por otra, para este caso concreto, el conocimiento de la acción fisiológica de la gelatina industrial (1) que es, además de un hemostático local, un coagulante general de la sangre dentro de los vasos, y los estudios de la viscosidad de la sangre de Adam (2), Weill y Gardère (3) y otros, que tienden á demostrar que hay hiperviscosidad cuando la sangre está sobrecargada de ácido carbónico, cuando el plasma es rico en sales, cuando hay poliglobulia verdadera ó relativa, ó cuando los glóbulos contienen CO^2 en considerable cantidad—cianosis de los preagónicos en casos de insuficiencia respiratoria—.

La coagulación de la sangre en la red vascular limítrofe del punto inyectado isquemiza una extensa zona de elementos celulares que se ven privados de nutrición, por lo cual se mortifican, y al mortificarse surge la placa de esfacelo en el mismo sitio de la inyección, que es precisamente donde por el traumatismo local — rotura vascular y compresión del líquido — puede y debe presentarse la trombosis, cuya aparición no hubiera chocado á Virchow, Richardson y tantos otros sabios que ni siquiera presumieron que se pudiera hablar de anafilaxia y que, para explicar la coagulación sanguínea, hablaban de «obstrucción mecánica, estancación de la circulación ó estados morbosos especiales del individuo en quien ocurría aquélla».

(1) *Gley y Richard:* Soc. de Biologie. Abril de 1903.

(2) *Adam:* Zur Viscosität des Blutes. *Zeistchr. f. Klin. Med.* Bd. LXVIII, H. 3-4, 1909.

(3) *Weill y Gardère:* La Viscosité du sang chez l'enfant. *Paris Medical*, núm. 32, 1912.

Los experimentos han tenido el fin de demostrar que las inyecciones reiteradas de un líquido en un punto, cuando ese líquido puede determinar hiperviscosidad—aumento de sales, de albuminoides, etc.—, son factores que, unidos á otros—lesiones vasculares—, bastan para determinar esfacelos, gangrena parecida á la que experimentalmente producimos en el conejo. Prometo dar cuenta de mis investigaciones.

Hoy por hoy me inclino á creer que, si hay un fenómeno de Arthus gangrenoso de origen anafiláctico, hay otros análogos en sus manifestaciones clínicas y en sus lesiones anatomo-patológicas de origen vascular.



Algunas investigaciones sobre una nueva prueba microquímica del esperma

POR

ANTONIO PIGA



El estudio de las reacciones de ese *quid ignotum* del esperma, llamado espermina, no sólo interesa á la medicina forense, sino que presenta un alto interés biológico general.

Si aceptamos los trabajos de Steinach y otros autores, diremos que el esperma no se hace fecundante sino cuando se mezcla con las secreciones de glándulas sexuales accesorias, y hoy todo nos inclina á creer que la espermina es el principio activo de la próstata y á considerarle, conformes con la opinión del investigador De Dominicis (1), como el factor químico más importante para la génesis del estímulo sexual.

Es sabido que en 1880 Schreiner aisló la espermina del semen de los mamíferos existente por lo menos en estado de fosfato de espermina. La solución alcohólica de este fosfato acidulada con ácido sulfúrico y tratada con agua de barita deja libre la base evaporando á baja temperatura. Después se disuelve y en seguida se precipita saturando exactamente con ácido fosfórico ordinario en solución un poco concentrada, obteniéndose al cabo de poco tiempo un precipitado cristalino, el cual tratado con agua de barita en ligero exceso deja en libertad la espermina. Para quitar al licor filtrado el resto de barita se añaden algunas gotas de ácido sulfúrico diluído y se evapora en el vacío (Poehl) (2).

(1) *De Dominicis:* Sur la fonction de la prostata. *La Province Médical*, 1909.

(2) *Prof. A. Poehl:* Die physiologisch. chemischen Grundlagen der Spermintheorie, nebst klinischen Material zur terapeutischen Verwendung des Sperminun, 1898.

No hemos de describir hechos ya conocidos, limitándonos á indicar que la espermina $C^5H^{14}N^2$ no responde, como se ve, á la fórmula de la ethylamina C^2H^5N ni á la fórmula doble de la piperacina $C^4H^{10}N^2$; y que en 1893, Ferrán descubrió el agente bacteriano (1) de la fermentación espermática de los esputos, del pus y del tejido mucoso, teniendo la espermina obtenida en los cultivos las mismas propiedades fisiológicas y químicas que las peculiares de la espermina de origen celular.

Poehl creía que la espermina era la substancia activa del jugo testicular y precisamente las pruebas microquímicas estudiadas en estos últimos años nos hacen suponer que existe en la próstata y por lo tanto en el esperma un cuerpo de propiedades que le individualizan y diferencian de los demás cuerpos contenidos en los restantes órganos de la economía animal humana.

Se trata, pues, conforme ha dicho acertadísimamente Lecha-Marzo (2), de aislar el secreto de la próstata, de encontrar la substancia que sea, respecto de aquélla, lo que es la adrenalina respecto de las cápsulas suprarrenales.

El fosfato de espermina — espermina inactiva — es un producto que en nada se parece á la espermina soluble — espermina activa — y este compuesto normal de la sangre, abundante por doquier en órganos y tejidos, de origen nucleínico, está aún mal conocido. Peset, de Sevilla, ha dicho con razón que «la palabra espermina indica una base cuya constitución química no está determinada» (3).

Podemos asegurar, después de experimentos reiterados, que el estado actual de la cuestión dista mucho de ser el que se tenía el día en el cual Florence anunció el descubrimiento de los pretendidos cristales del yodo-espermina, y además suponemos que muchos de los fracasos y desalientos sufridos por determinados investigadores dependen ó de no haberse ajustado con entera fidelidad á la técnica, ó de la falta de paciencia precisa para reiterar las observaciones; bases ambas de innegable interés para la consecución del éxito.

No hemos de referir ahora la copiosa bibliografía, en parte española, dedicada al estudio de las pruebas microquímicas del esperma. Además, la mayor parte de ellas no nos induciría á sospechar la existencia del cuerpo específico buscado (Dervieux ha negado el valor de estas pruebas); solamente la reacción del ácido pícrico (4) y la del ácido fosfo-mo-

(1) *Ferrán*: Una lección de organoterapia. La espermina.

(2) *Lecha-Marzo*: Otras nuevas reacciones de la espermina. (Sociedad de Biología, 1913).

(3) *Peset:* Sobre la reacción de Barberio, 1910.

(4) *Barberio:* Nuova reazione microchimica dello sperma e sua aplicazione nelle richerche médico-legal.

líbdico permiten concebir esperanzas y dan bases para serena y concienzuda crítica.

La reacción obtenida con el fosfo túngstico por Bokarius (1) no parece que deba merecer gran confianza, como ya lo indicaron Lecha-Marzo y Welsch (2) y confirma ahora Olbrycht (3) en un estudio hecho en el laboratorio del profesor Wachholz.

Si se lee el trabajo de Bokarius se comprobará también que no ha empleado más que el ácido fosfo-túngstico, no haciendo mención del fosfomolíbdico ni una sola vez, á pesar de que se diga lo contrario en una traducción española.

* * *

Dicho esto, entremos en materia comenzando, á fuer de imparciales, por reconocer que emprendimos nuestras investigaciones por consejo del sabio y querido profesor Dr. Maestre, y á él y á su ayudante Dr. Lecha-Marzo por sus consejos testimoniamos nuestro reconocimiento.

Dedicamos esta nota al estudio de la reacción propuesta por este último autor en 1913 (4), la cristalización que da el esperma en presencia de la disolución acuosa de ácido fosfo-molíbdico al 1 por 10, y hemos obtenido centenares de preparaciones en distintas condiciones de tiempo, temperatura, etc. Los cristales obtenidos (véanse las microfotografías) son de formas diversas, dominando los exagonales, los de forma morular y los semilunares.

Los exagonales se hallan con frecuencia superpuestos unos á otros, lo que les da un aspecto de macla que no hemos observado en la reacción del ácido fosfo-molíbdico y otros muchos cuerpos. Esa curiosa disposición apréciase á placer en una de las microfotografías.

Los cristales en mórula se diferencian bien de otros cristales pseudomorulares que resultan de la unión de esfero-cristales. Además, suelen ir acompañados de otros cuyas formas en rosetas, amariposadas, etc., confirman que no se trata de una sencilla unión de cristales redondeados.

Los semilunares tal vez sean cristales fragmentados.

Esta reacción se caracteriza en conjunto, no por un solo carácter ni por una cualidad. Cuando se ha hecho muchas veces resulta fácil apreciar al primer golpe de vista que se trata de esperma; careciendo de la

(1) *N. Bokarius:* Ueber einige mikrochemische Reaktionen des Spermas. Viertelj. f. ger. Med. 3 Folge XXXIII, 2-1907.

(2) *Lecha-Marzo* y *Welsch:* Contribution à l'étude de la microchimie du spermin *(Arch. inter. de Med légale.* Inst. de l'Université de Liage).

(3) *Olbrycht:* Aerztliche Sarchverslandegen Zeitung, 1914.

(4) *Lecha-Marzo:* L'acide phospho-molibdique, reactif du sperme *(Arch. de Med. légale,* 1913).

práctica suficiente, las dificultades, sin llegar á ser insuperables, son parecidas á las de toda reacción microquímica.

Con objeto de fijar bien el valor de la reacción, examinamos distintos cuerpos, siguiendo en todo técnica igual (1) á la empleada en el esperma, y obtuvimos los resultado que mencionamos á continuación :

Saponina.—No se formaron cristales.

Convamalarina.—Pentágonos y formas romboédricas poco ó nada parecidas á las del esperma.

Calabarina.—Crecimiento osmótico.

Daturina.—Formas cristalinas triangulares.

Cubebina.—No se formaron cristales.

Esparteína.—Crecimiento osmótico.

Urea.—Cristales parecidos á los de la daturina.

Papaverina.—Idem íd. íd. íd.

Tebaína.—Nada.

Teobromina.—Bellos cristales cúbicos.

Nicotina. — En este cuerpo fijamos mucho la atención. La microfotografía que acompaña al trabajo, permite ver que las formas cristalinas son muy diferentes de las obtenidas en el esperma. Hay algún cristal exagonal, pocos, y dominan los que aparecen en forma de pequeños cuadritos de doble contorno. No hay agujas ni mórulas.

Secreción vaginal.—No vimos jamás cristales parecidos á los del esperma, y siempre pudimos observar la presencia de células de epitelio pavimentoso con sus núcleos correspondientes.

Muscarina.—No hay cristales.

Yohimbina.—Láminas amarillas irregulares y superpuestas.

Estrofantina.—Gruesos cristales derivados del sistema cúbico.

Colina.—Puede decirse que en el estudio de la reacción de la colina y del ácido fosfo-molíbdico hemos empleado tanto tiempo como en la del propio esperma. Primero, porque Lecha-Marzo no había demostrado si la colina suministraba cristales análogos á los del esperma; y segundo, por ser la colina la principal causa de error de las pruebas microquímicas de aquél.

Richter (2) sostuvo antes que nadie que la colina daba origen á la reacción de Florence, y como el esperma fresquísimo apenas eyaculado la da, supuso que en el esperma existía aquélla normalmente, por lo menos en pequeñas cantidades. La reacción del tribromuro de oro también

(1) Véase el trabajo de Lecha-Marzo, loc. cit.

(2) *Richter:* Der microchemisch. Nachweis von Sperm. (*Wiener Klinische Wochenschrift*, 1897, núm. 24).

se obtiene parcialmente con la colina, conforme aseveraciones de su autor (1), con el ácido fosfo-molíbdico.

Albergamos la seguridad de no ser confundible la reacción espermática y la de la colina. En esta última, tras un lapso de tiempo variable, casi nunca corto, surgen numerosos y finísimos hacecillos de agujas, que se entrecruzan, dando al campo microscópico un bello aspecto de múltiples estrellas entrelazadas. También se ven granos embrionarios formando grupitos. Los cristales aparecen en el borde del porta, son de color amarillo intenso, de contorno fuertemente marcado, y se forman mucho más tardíamente que las estrellas.

Las formas de los cristales varían, ora se trate de prismas exagonales, ora de largos y estrechos cristales cuadrangulares. Junto á ellos he visto y estoy por afirmar que tienen una verdadera importancia, esfero-cristales, los que si se reunen dan lugar á formas pseudo-morulares que no tienen por lo general ni el tamaño ni el típico aspecto de las mórulas obtenidas con el esperma.

La menor compresión del cubre deforma los cristales y — cosa importantísima — puede hacer que no se presenten las características agujas observables en la zona límite, cuyas agujas unidas á los esfero-cristales dan á las preparaciones un aspecto sumamente demostrativo.

Olvidábasemos decir que la evaporación del reactivo engendra grandes cristales romboédricos que nunca ofrecen dificultades en su diferenciación con los del esperma, siquiera algunos tomen la forma exagonal. Diferéncianse por el tamaño, por el aspecto y por su intensa coloración amarilla.

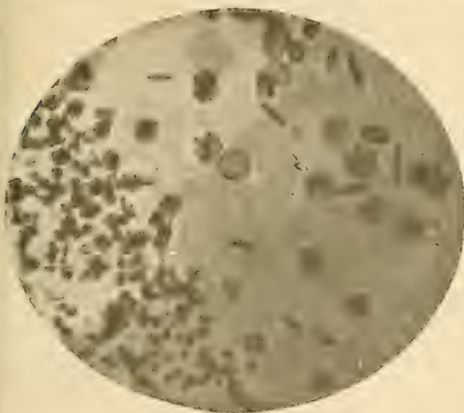
Menos confusión cabe aún con los cristales de los sedimentos urinarios que hemos examinado repetidas veces. Entre ellos los más parecidos — leucina, finas agujas en rosa; y sulfato de cal, prismas alargados ó agrupados en rosetas regulares — no tienen el más pequeño parecido. El error no es posible.

En fin, y en espera de nuevos trabajos, como resultado de nuestras pesquisas, concluímos aceptando el valor de la reacción del ácido fosfo-molíbdico, y aconsejando á nuestros colegas el estudio de esta microquimia espermática tan fecunda en hechos nuevos.

DISCUSIÓN

El Dr. **Lecha-Marzo:** En estos mismos días, el profesor Magri, de Catania, publica un estudio de microquimia del esperma, y puede decirse que las investigaciones de nuestro colega italiano confirman las de Piga. Magri declara que la reacción de Barberio y mi reacción del ácido fosfo-molíbdico son las únicas reacciones

(1) *De Dominicis:* Nuova reazione dello sperma. *Risveglio Medico*, 1910.



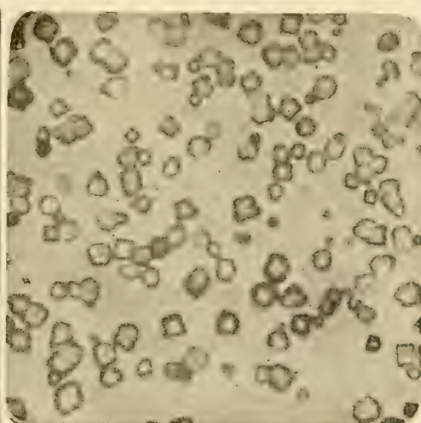
Esperma humano y ácido fosfo-molíbdico. Cristales exagonales.



Los mismos cristales de la figura anterior vistos á mayor aumento.



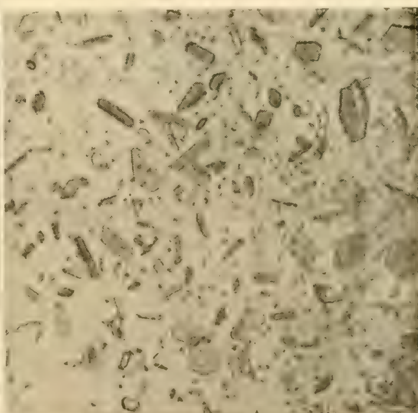
Esperma humano tratado por el ácido fosfo-molíbdico. Formas morulares.



Nicotina y ácido fosfo-molíbdico. Cristales.



Disolución de colina al 1 por 50, tratada por el ácido fosfo-molíbdico. Agujas.



Colina al 1 por 50, tratada por el ácido fosfo-molíbdico. Cristales.

específicas del esperma; declara además que, sin embargo, no resulta esta última muy aplicable á la práctica médico-legal, lo que no coincide con los resultados de Piga y los nuestros.

(Trabajo del Laboratorio de Medicina Legal de la Universidad de Madrid. Director: Dr. MAESTRE).



SESIÓN DEL 17 DE ABRIL DE 1914



Sobre la acción fisiológica del estirol

POR

J. RODRÍGUEZ CARRACIDO Y A. MADINAVEITIA



La hipótesis de Overton y H. Mayer trató de dar una explicación puramente físico-química á la acción de los anestésicos sobre el organismo, admitiendo que el sueño era producido por la solución del compuesto en los lipoides del tejido nervioso central. Esta hipótesis no pudo explicar fenómenos observados posteriormente; Kochmann y otros fisiólogos la atacaron, empleando entre otros argumentos el de que las grasas neutras, que son insolubles en el agua y muy fácilmente solubles en los lipoides, debieran poseer una acción anestésica muy marcada, cosa que no sucede.

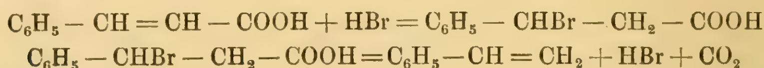
La hipótesis de Kochmann, hoy corrientemente aceptada, admite la solubilidad en los lipoides como un medio para que el hipnótico pueda desarrollar su acción sobre el cerebro y supone que ésta es debida á la formación de un compuesto de adición inestable entre alguno de los componentes químicos del sistema nervioso central y el hipnótico. En realidad, todas las substancias químicas de acción marcadamente hipnótica forman con más ó menos facilidad productos de adición.

Estos compuestos que admite Kochmann, se pudieran suponer formados por valencias residuales de un modo análogo á las quinhidronas, á la combinación de muchas sales con el solvente de cristalización ó á las combinaciones de la colesterina con las saponinas. La presencia de valencias residuales es fácil de demostrar en la mayor parte de los hipnóticos; pero dentro de las ideas actuales sobre esta clase de dinamicidades, en ningún hipnótico está tan clara la relación entre la acción fisiológica y la presencia de dinamicidades parciales en su molécula como en aquellos cuya acción es debida á contener ligaduras dobles.

La vecindad de grupos electro-negativos aumenta las valencias residuales de la ligadura etilénica; este aumento se nota en la mayor facilidad de adición del hidrógeno naciente; solamente aquellos etilenos cuya ligadura doble está próxima á un grupo electro-negativo son reductibles en solución alcohólica por sodio.

Nos pareció de interés el ensayar la acción hipnótica de derivados etilénicos de este tipo y elegimos para su estudio el estirol (feniletileno) por ser un derivado etilénico hidrogenable por sodio en alcohol y por ser la substancia madre del ácido cinámico, cuerpo de aplicación terapéutica corriente.

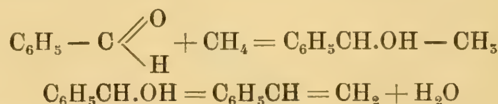
El método corrientemente empleado en los Laboratorios para la síntesis del estirol consiste en adicionar ácido bromhídrico á la ligadura doble del ácido cinámico y descomponer por álcali el ácido β-bromohidrocinámico formado, que se descompone dando anhídrido carbónico, ácido bromhídrico y estirol,



$$C_6H_5-CH=CH-COOH+HBr=C_6H_5-CHBr-CH_2-COOH$$
$$C_6H_5-CHBr-CH_2-COOH=C_6H_5-CH=CH_2+HBr+CO_2$$

Este método, además de resultar costoso, da un rendimiento escaso.

Hemos preferido emplear otro método que nos da mejores resultados. Obtenemos, por adición de metano en forma de yoduro de etilmagnesio al benzaldehido el fenilmetilcarbinol, y este alcohol lo hacemos pasar á la olefina correspondiente por deshidratación catalítica



$$C_6H_5-C\begin{matrix}/\!\!/O\\ \diagdown H\end{matrix}+CH_4=C_6H_5CH.OH-CH_3$$
$$C_6H_5CH.OH=C_6H_5CH=CH_2+H_2O$$

La deshidratación la efectuamos destilando el alcohol con el catalizador, de modo que los vapores no pasen á una temperatura superior á 160°. A esta temperatura pasa una mezcla de estirol y de agua; se separa el hidrocarburo en un embudo, se seca sobre cloruro cálcico y se destila. Como catalizadores hemos ensayado el bisulfato potásico y el óxido de torio, empleando una décima parte en peso del alcohol deshidratado; con ambos se obtienen buenos resultados, siendo el rendimiento con el óxido de torio mejor que con el bisulfato potásico.

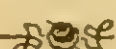
La acción fisiológica la hemos ensayado en ranas y en conejos: 0'1 centímetros cúbicos inyectados en el saco linfático pectoral matan á una rana de 10 gramos en 20 minutos. A pesar de tener un punto de ebullición de 144°, funciona con anestésico por inhalación para las ranas. La respiración de sus vapores produce un letargo más ó menos prolongado con desaparición casi total de los reflejos y sin que se noten los fenóme-

nos cerebrales propios de los hidrocarburos aromáticos. Se observa un aumento notable de la secreción cutánea. La acción desaparece totalmente; hemos repetido varias veces la anestesia en el mismo animal sin observar ninguna clase de trastornos.

En el conejo no hemos conseguido producir por inhalación anestesia total; sólo llegamos á producir un atontamiento con disminución de reflejos. En inyección hipodérmica ó gástrica no produce efecto á dosis menor de cuatro gramos por kilogramo; á esta dosis produce una parálisis de las patas traseras; pero sin observarse tampoco en el conejo los fenómenos cerebrales de los hidrocarburos aromáticos.

El estirol tiene una acción semejante á la de la acroleína estudiada por Mitscherlich, que también es anestésica para las ranas y tóxica para los conejos; la acroleína $CH_2 = CH - CHO$, lo mismo que el estirol, tiene una ligadura etilénica próxima á un grupo de carácter electro-negativo.

(Trabajo efectuado en el Laboratorio de Química Biológica de la Facultad de Farmacia de Madrid).



Sobre una tenia nueva en España

POR

SADÍ DE BUEN

Entre el material recolectado por mí para la colección de la Facultad de Medicina hay una tenia, que fué expulsada por un niño, que encontré en el Laboratorio de Biología de Palma de Mallorca en 1908 y que, al clasificarla, hemos identificado con la *Hymenolepis diminuta* ó *Taenia diminuta* (según la antigua nomenclatura). La sinonimia de esta especie de Cestodes es la siguiente: *Taenia diminuta*, Rudolphi, 1819, hallada en el *Mus decumanus* (*Epimys norvegicus*), *Mus rattus* y especies afines; *Taenia leptocephala*, Creplin, 1825; *Taenia flavopunctata*, Weinland, 1858 (al propio tiempo = *Diplacanthus*, Weinland, 1858, *pro parte*, en lo que se refiere á su afinidad genérica con la *Taenia* [*Hymenolepis*] (*nana*); *Hymenolepis flavopunctata*, Weinland, 1858, y también *Lepidotrias flavopunctata*, Weinland, 1858, *Taenia flavomaculata*, de Leuckart, 1863; *Taenia varesina*, Parona, 1884 (cuatro ejemplares recogidos por el Dr. Parona en Varese (Italia), de una niña de dos años); *Taenia mínima*, Grassi, 1886; *Hymenolepis inerme*, de Raillet, y finalmente, *Hymenolepis diminuta*, R. Blanchard, 1891.

Trátase de una especie parasitaria rara en el hombre. El primer caso fué hallado por Ezra Palmer, en Boston, el año 1852, en un niño de diecinueve meses; algunos otros han sido luego encontrados en Italia, particularmente en Sicilia (donde es frecuentísima la *Hymenolepis nana*), en Francia y en América. Se conocen en conjunto, hasta ahora, poco más de una docena de casos. Por esto, aunque los datos clínicos que he recogido no sean muy completos, creo interesante dar á conocer la presencia de dicha especie parásita en España.

El enfermo de que procede era un niño de dos años y medio, que llevaba dos meses de enfermedad y presentaba una anemia bastante pronunciada, palidez y desvanecimientos.

Se le administró un purgante y expulsó cuatro tenias; luego un tenífugo y expulsó otras varias cuyo número no he podido precisar.

Tardó más de seis meses en reponerse completamente.

De lo dicho se deduce que los síntomas fueron bastante pronunciados, cosa que, según afirman los autores, no ocurre en esta tenia, la cual suele pasar desapercibida; contrariamente á lo que se observa en los casos de parasitismo por *Hymenolepis nana*, que es al propio tiempo la más pequeña y la más temible de las tenias de los niños. Seguramente será debido á que en el caso relatado el número de tenias sería mayor al que comunmente se presenta (1 á 6).

La *H. diminuta* es una tenia de 20 á 40 centímetros de largo (20 en nuestro caso). La cabeza, que falta en nuestro ejemplar, presenta en su ápice una depresión pequeña, en la cual se aloja un rostro inerme poco desarrollado. Está provista de cuatro ventosas de poco diámetro, pero muy profundas y musculosas.

Los anillos maduros son de 2 $^1/_2$ milímetros de anchura por $^1/_2$ de longitud; vistos al microscopio, previamente tratados por la potasa ó por cualquier aclarante, muestran estar constituídos por un verdadero saco completamente lleno de huevos.

Los anillos de la parte media de la cadena presentan, al examen macroscópico, hacia su parte media y posterior, una mancha amarillenta, debida á las masas testiculares, que, unida á la de los anillos vecinos, parece constituir una cinta, característica de esta especie. A este carácter morfológico macroscópico se deben los antiguos nombres ya recordados de Weinland y de Leuckart: *T. flavopunctata* y *flavomaculata*. Estas proglótides presentan los órganos genitales en su completo desarrollo.

El aparato masculino está constituído por tres masas testiculares, voluminosas y obscuras. En los cortes, que hemos practicado con poca fortuna en este ejemplar conservado desde hace tiempo en alcohol malo y que hemos teñido con hematoxilina-eosina y con otros métodos, se pre-

sentan llenas de espermatozoos pequeñísimos, cuyo conjunto tiene una apariencia de ovillo constituído de elementos filamentosos.

De estos testículos, hay uno más voluminoso, que ocupa próximamente la parte media del anillo. Por fuera de él y del lado del poro genital se encuentran los otros dos, más pequeños. Comunican con el exterior por un canal deferente que tiene un ensanchamiento, la vesícula seminal.

El ovario (con el vitelógeno y la glándula que segrega las cubiertas del huevo) ocupa la parte central.

La vagina se abre al exterior por el poro genital, que es siempre unilateral. Este último carácter es uno de los que se aprovechan para la clasificación.

El útero ocupa gran parte del anillo. Tiene la forma de una U, horizontal y de ramas muy largas.

Cada rama está separada de la otra por tejido conjuntivo y se halla dividida por finos tabiques, completos unas veces, incompletos otras, en distintos compartimientos, ocupados todos ellos por las masas de huevos. La parte abierta de la U mira al poro genital.

Entre los órganos y rellenando completamente los espacios intermedios se encuentra un tejido conjuntivo constituído por fibras que se intersecan dando un aspecto alveolar.

Entre las fibras hay elementos celulares estrellados (células conectivales). Además, el anillo se halla recubierto por una capa de fibras musculares longitudinales.

El aparato excretor está constituído por dos conductos longitudinales laterales que se continúan por todos los anillos y están unidos entre sí por canales transversales situados en el límite de cada proglótide.

La tenia de que tratamos vive de ordinario en el intestino delgado de ratas y ratones, localizándose frecuentemente á pocos centímetros del píloro.

Emilio Brumpt la ha encontrado en París en un 55 por 100 de las musarañas; en cambio, la ha visto raras veces en los ratones.

Para continuar su desarrollo es necesario que el embrión exacanto penetre en la cavidad general de diversos insectos; en ésta se transforma en cisticercoide (Cercocystis H. diminutae). Hasta hoy se conocen como sus transmisores dos coleópteros: *Akis spinosa* y *Scaurus striatus* (especies francesas); un ortóptero, el *Anisolabis annulipes* (forficúlido) parecido á las vulgares *tijeretas;* y, sobre todo, un lepidóptero, el *Pyralis* ó *Asopia farinalis*, tanto en su fase de oruga como de mariposa. Ultimamente se le ha encontrado en algunas pulgas de las ratas (Nicolle y Minchin, H. Johnston).

Del *A. annulipes* y del *A. farinalis*, comunes en España y los que más



fácilmente se ponen en contacto con el hombre, daremos una somera descripción por ser importante su conocimiento para la profilaxis é investigación de la enfermedad.

El *Anisolabis annulipes* vive debajo de las piedras en los lugares húmedos. Se encuentra en el Sur y Este de nuestra península (I. Bolivar. *Catálogo sinóptico de los ortópteros de la fauna ibérica*). Fué descrito por primera vez por Lucas en 1847 en los *Anales de la Sociedad entomológica de Francia*. Es parecido, como hemos dicho, á las tijeretas; de color muy obscuro y brillante. Las antenas tienen dieciséis artejos; el primero ó los tres primeros, rojizo-claros; el treceavo, pálido; los demás, obscuros. La parte superior del protorax es de un negro brillante y se presenta acanalada en su parte media. El pecho y las patas son amarillas; los fémures presentan un anillo parduzco. El abdomen negro algo punteado, con escasos pelos bastante largos y terminado posteriormente por unas robustas pinzas. Estas son algo distintas en el macho y en la hembra; en el primero son casi dos veces tan largas como el último segmento dorsal, casi rectas y cruzadas en el ápice, no presentan diente interno. Las de la hembra son más pequeñas y menos cruzadas.

La *P. farinalis* vive en las habitaciones poco frecuentadas y sucias, en cuyas paredes se posa torciendo el abdomen hacia arriba. Los ápices son leonados; la cabeza y el cuerpo amarillentos y obscuros. Los dos primeros anillos del abdomen presentan manchas obscuras laterales. Las alas anteriores tienen un espacio medio claro, amarillento, limitado por dos líneas sinuosas blancas.

Por dentro y por fuera de ella el ala es rojiza y mucho más obscura. Las alas posteriores son claras, con dos líneas blancas también sinuosas y presentan varias manchas obscuras en su borde externo. La oruga, amarillenta, vive en las materias vegetales secas; pasa el invierno en la paja y el salvado. Se convierte en crisálida en Mayo y se transforma en mariposa de Junio á Agosto (Maurice Ginard: *Traité d'Entomologie*).

Grassi sobre todo, y luego sus discípulos, entre ellos Rovelli, estudiaron el ciclo evolutivo de la *Hymelepis diminuta*, y demostraron que infecta á las ratas y al hombre si éstos ingieren los cisticercoides. Dos hombres tomaron éstos, procedentes del *A. annulipes*, y uno de ellos presentó á los quince días tenias adultas, que le fueron curadas con extracto etéreo de helecho macho.

En la práctica es posible la infección, sobre todo en los niños, porque éstos traguen cualquiera de los insectos citados ó restos de estos insectos con cisticercoides vivos, sobre todo la *P. farinalis*, lo que no tiene nada de extraordinario, dada la frecuencia con que muchas madres dejan á sus hijos que coman con los platos en el suelo.

También es posible comiendo pan mal cocido, que puede llevar los insectos muertos, pero con cisticercoides vivos, gracias á la mayor resistencia de éstos (Brumpt).

El diagnóstico se hace fácilmente investigando los huevos en las heces.

Debemos aquí hacer constar que no se encuentran en los libros de Parasitología descripciones completas, y sobre todo exactas, de los caracteres morfológicos de los huevos.

Afortunadamente he tenido ocasión de recoger huevos numerosos en los anillos maduros y de estudiarlos con precisión. Vamos á describirlos y dibujarlos para que no haya lugar á dudas.

Se presentan en distinta forma, según el plano óptico en que se les observa.

Vistos de frente aparecen los embriones redondeados, granulosos, provistos de seis ganchos (embriones exacantos), perfectamente perceptibles unas veces, confundidos entre sí y de difícil numeración otras.

Alrededor de los embriones y envolviéndoles hay una masa irregularmente redondeada y granulosa como ellos. Toda esta masa se encuentra contenida en una cápsula, formada por dos piezas: una interna ovalada con un mamelón en cada extremo, y otra que la rodea, también ovalada y de extremos lisos; por lo tanto, son tres las membranas que rodean al embrión, carácter común á los huevos de todas las *Hymenolepis*.

Visto de perfil el embrión toma una forma ovalada, mamelonada en los extremos (como un limón).

La cápsula externa de la envoltura del huevo aparece en forma de campana y la pieza interna semi-lunar. Las dos, externa é interna, se presentan finamente estriadas.

La cápsula en conjunto produce el efecto de una amplia campana que tuviera cerrada su gran abertura por un opérculo.

Me propongo ampliar estos datos con mayor número de observaciones si se me presenta ocasión favorable, lo que no creo difícil. Entre tanto, determinaremos cuál es el tanto por ciento de ratas y ratones de Madrid parasitados con la *H. diminuta*.

Antes de terminar debo decir que hay en Madrid actualmente un caso, que está estudiando el Dr. Ruiz Falcó, del Instituto de Alfonso XIII, de un niño que presenta desde hace mucho tiempo (meses) huevos en las heces, los cuales han sido diagnosticados como de una *Hymenolepis* por el Dr. Pittaluga, con gran probabilidad de *H. nana* (*Diplacanthus nanus*, Weinland; *Taenia nana*, Siebold, 1852, quizás identificable con la *T. murina*, Dujardin, 1845). Estamos haciendo con ellos la prueba biológica, suministrándoselos con los alimentos á ratas blancas.

Procesos regenerativos del nervio óptico y retina con ocasión de ingertos nerviosos

POR

LEOZ ORTÍN Y L. R. ARCAUTE

Los trabajos de Cajal logrando excitar las fibras de la substancia blanca medular, mediante degeneraciones provocadas en las raíces anteriores, los del mismo maestro estimulando el trofismo de los axones marginales por neoformaciones conectivas de la pía y los de Tello intercalando ingertos nerviosos en heridas cerebrales del conejo, son muy demostrativos de la posibilidad de aumentar notablemente la capacidad regenerativa de los centros nerviosos poniéndolos en contacto de formaciones mesodérmicas y más aún de tubos de Schwann de nervios periféricos atacados de degeneración walleriana.

Este último sabio realizó también trabajos en este mismo sentido para probar que en dichas condiciones realizábase igual fenómeno con el nervio óptico.

Estudió en la primera de las dos series de experimentos por él practicados la capacidad regenerativa del nervio visual en condiciones ordinarias, es decir, tras simple sección del mismo y pudo observar que en el cabo periférico ó cerebral del seccionado persistían las fibras y aun eran capaces de crecer durante algún tiempo alcanzando á la cicatriz; pero ya á los cuarenta días de operación tales fibras han degenerado, siendo sustituídas por trama neuróglica neoformada.

En cuanto al cabo central ó retiniano, los fenómenos regenerativos serían mucho más enérgicos y duraderos. A los cuarenta días gran parte del territorio de la pupila y nervio seccionado eran atravesados por fibras nuevas terminadas en bolas, anillos ó arborizaciones de ramas cortas pero sin que ninguna alcanzase á abordar el cabo cerebral del óptico seccionado.

Por esta misma fecha halla en la retina notables modificaciones, consistentes sobre todo en la producción de retoños extraviados, perforantes acabados á diferentes alturas de las capas retinianas y de curso más ó menos complicado á través de las mismas.

En su segunda serie de experimentos se propuso averiguar si la presencia de las células de Schwann podría promover mayor crecimiento y capacidad regenerativa del cabo óptico unido á la retina, ingertando y

fijando mediante sutura de seda al cabo dicho del óptico trocitos de nervios periféricos del mismo animal. La no persistencia del confrontamiento tan exactamente realizado durante el acto operatorio entre uno de los polos del ingerto y el cabo central del óptico, resta gran valor á sus experiencias, poniendo, sin embargo, en evidencia hechos ya comprobados por Cajal, como el referente á la capacidad que poseen los ingertos de atraer y ser rápidamente inervados por nervios musculares accidentalmente seccionados.

En suma, los citados experimentos probaron, entre otros hechos, que también en las vías centrales los axones separados de su centro trófico son susceptibles, cerca de la herida, de crecer, ramificarse y hasta invadir parcialmente la cicatriz, si bien este movimiento regenerador fracase enteramente.

Por otro lado, si no llegó á observar la entrada de los retoños de fibras ópticas en los ingertos de nervio común, señaló la tendencia de los mismos á orientarse en dirección de las células de Schwann del nervio transplantado.

Estos trabajas de Tello fueron ampliados y confirmados por O. Rossi. Las secciones del nervio óptico las practicaba en su trayecto intracraneano, sorprendiendo con más abundancia y precocidad que Tello fibras neoformadas que, tanto en el cabo retiniano como en la cicatriz, se ramificaban ampliamente, penetrando algunas de ellas, á los veintidós días de operación, en la extremidad del cabo cerebral. El mismo Rossi, sacrificando á los siete meses animales apenas en iguales condiciones, no pudo comprobar el susodicho crecimiento de las fibras regeneradas dentro del cabo periférico, ni tan siquiera la persistencia de las fibras que tan tempranamente logró ver alcanzar al cabo cerebral.

En los experimentos por nosotros realizados, tratamos de resolver si se lograría impedir la atrofia de los retoños nerviosos provocados por sección del óptico, si éstos se encontraron dentro de la cicatriz intermediaria á ambos cabos, un trozo de nervio periférico en fase de bandas de Büngner, es decir, en degeneración.

Practicáronse las operaciones de ingertación con toda la delicadeza posible, evitando la sección de la oftálmica y procurando no entorpecer la nutrición del nervio ni retina por heridas y traumatismos de la arteria central de la misma. Con los graves inconvenientes consecutivos á la sección de estas arterias, hubo de luchar también Tello en sus experiencias, y la posibilidad de estos mismos inconvenientes indujo á O. Rossi á realizar sus experimentos, practicando la sección intracraneal, asegurando así mejor la vitalidad de la retina y nervio óptico unido á ella.

Las operaciones las realizamos primeramente en un lote de 10 conejos,

que designamos por el número de orden. Menos en el señalado con el número 7, en el resto del lote se ingertó en la herida del óptico un trozo de ciático fresco del mismo animal ó de otro de la misma especie y condiciones, sacrificado en aquel instante.

En el dicho número 7 el ingerto fué, no de nervio fresco, sino de un trozo de cabo periférico previamente seccionado hacía once días.

La modalidad del ingerto fué variada; en tres se suturó el ingerto tan sólo al cabo retiniano del óptico; en otros dos la sutura fué doble, suturando el ciático ingertado á los dos cabos, retiniano y cerebral, del óptico seccionado, y en los dos restantes el ingerto fué en cuña, es decir, introduciendo y suturando un extremo del ciático ingertado en una hendidura practicada en el óptico, salvando una parte del neurilema del mismo.

La técnica seguida fué la aconsejada por nuestro maestro el Dr. Cajal: fijación en piridina al 50 por 100, é impregnación argéntica en estufa á 38° por cinco días. Los resultados de la impregnación fueron excelentes, salvo en el número 7.

En cuanto á los resultados prácticos, los expondremos primero de una manera general, insistiendo luego en algunos casos particularmente interesantes para la cuestión que nos ocupa.

De acuerdo con las observaciones de Tello y O. Rossi, la sección del óptico provoca á menudo la necrosis parcial de la papila y de la región central del nervio óptico. A los doce días la regeneración del óptico se halla muy adelantada. Aparece inervada por fibras regeneradas la región necrótica del nervio y algunas fibras dispuestas en haces ganan la cicatriz, en cuyo tejido conectivo avanzan, pero no en mucho trayecto.

Los restos del coágulo sanguíneo, motivado por herida de la arteria central del óptico, oponen obstáculo serio á la progresión inicial de los retoños, y la misma gran extensión de la cicatriz, una vez aquél reabsorbido, es otro grave impedimento al avance de las fibras regeneradas, no alcanzando en ningún caso á la prolongación de las mismas hasta el cabo periférico ó cerebral.

Si además de esto tenemos en cuenta que, á pesar de la sutura, la coaptación de los extremos suturados no persiste y el ingerto presenta al cabo retiniano del nervio óptico seccionado, no el extremo del mismo que se suturó, sino el trayecto cordonal, de tal modo que el influjo de las substancias tróficas liberadas por las células de Schwann no alcanzan, dada la impermeabilidad del neurilema, á provocar estímulo alguno regenerativo, no es de extrañar que en estas condiciones la regeneración de la vía óptica primaria quede totalmente frustrada.

Por circunstancias especiales, en los casos números 8 y 2 se desarro

llaron fenómenos de orientación y regeneración particularmente interesantes. El citado caso número 8 hacía, en efecto, excepción á la indiferencia de los retoños nerviosos hacia el ingerto transplantado.

Tratábase de un ingerto en cuña. Sacrificado el animal, á los catorce días de operación observóse que la cicatriz era angostísima y que, por feliz casualidad, un extremo del ingerto hallábase íntimamente unido al cabo central ó retiniano del óptico, si bien sus fascículos no marchaban en exacta dirección con los de este último.

Las fibras regeneradas, abundantísimas en los límites del óptico, acababan por arborizaciones complicadas ó ramas dicotómicas, en maza, anillos ó apéndices espinosos. Pero, y este es el hecho más interesante, uno de los paquetes de retoños que abordaban la cicatriz intermedia, después de un trayecto regular gana la puerta de entrada del ingerto y sus fibras le invaden, ganándolo en todo su trayecto y prolongándose hasta el extremo opuesto, donde ya se pierden. En su camino, á lo largo del ingerto, algunas veces se dividen, sobre todo al tropezar con acúmulos lipodes de nervios regenerados, y adelgazan sucesivamente, recordando en un todo al aspecto de los retoños inervadores, recientemente descritos por Cajal con ocasión de los ingertos de nervios.

Otro de los casos dignos de mención fué el número 3, notable por la riqueza de fibras regeneradas, nacidas en plena retina y á distancia de la papila. El interés de este caso estriba en que en él se hacen patentes las condiciones de la producción de esas singulares fibras intra-retinianas perforantes, descritas ya por Tello, y cuyo determinismo parecía bastante enigmático.

En nuestros preparados, sin excluir como coadyuvantes de la creación y desorientación de conductores intra retinianos nuevos, la contusión ó conmoción retiniana obrada mediatamente por el traumatismo esclerotical ó por la misma sección del óptico, la dicha creación y desorientación de esos conductores intra-retinianos nuevos viene condicionada por la inflamación traumática de la esclerótica conformación, abundante en el espesor de ésta, y de la coroides de tejido conectivo embrionario.

En el citado caso 3.°, durante las maniobras de ingertación y sutura, hirióse accidentalmente la esclerótica, produciéndose notable hiperplasia de células conectivas y engrosamiento de fascículos, constitutivos de rodetes hipertróficos, en torno de la lesión. Esta flegmasía se propagó á la coroides, y, en fin, hasta la retina misma, cuyas zonas pigmentarias, de conos y bastones y granos extensos, presentaba notable espesor.

Prescindiendo de los desórdenes ocasionados en conos y bastones, los cambios principales son sobrevenidos en las células horizontales y de las fibras del nervio óptico. En los parajes más alterados, que son los invadi-

dos por gran número células conectivas, leucocitos y corpúsculos pigmentarios dislocados, dichas neuronas, así como sus apéndices, se han desvanecido casi por completo. En otros territorios la capa plexiforme se conserva bien, observándose que de los brazos protoplásmicos de las neuronas horizontales destacan dendritas que por su posición y orientación y modo de terminar dan la impresión de retoños.

En la capa de las fibras ópticas, el número de éstas ha crecido enormemente, constituyendo gruesos haces que comprimen las células ganglionares, y en cuyo límite se ven numerosas mazas y bolas detenidas. De fascículo á fascículo saltan algunos retoños, los cuales cambian de itinerario y emiten á veces recias colaterales. Los retoños nacidos de esta zona, y penetrantes en las capas retinianas, se pueden clasificar en los tres siguientes grupos:

1.° *Perforantes totales.*—Son, por lo regular, grusos conductores que desde un principio cruzan perpendicular ú oblicuamente todo el espesor de la retina, no parando hasta el espesor ó los confines de la pigmentaria, donde á menudo se bifurcan y siguen por debajo de la misma trayectos horizontales, constituyendo por su entrecruzamiento tupido plexo. Otras retroceden, doblándose, acabando por finas mazas ó bulbos, y otras atacan resueltamente la esclerótica, dentro de la que se ramifican.

2.° *Fibras estacionadas en la plexiforme externa.*—Son abundantes y llegadas á esta zona ingresan en ella, haciéndose hirizontales, y se confunden las constitutivas de esta zona y algunas se bifurcan, dando lugar á dos ramillas que caminan en dirección contrapuesta.

3.° *Fibras estacionadas en la plexiforme interna.*—Igualmente que las anteriores, se hacen horizontales al ponerse en contacto con las de esta zona y en ellas se pierden ramificándose. Del curso de unas y otras no es raro ver emerger finas dendritas ascendentes.

CONCLUSIONES

1.ª En condiciones normales la mera interrupción del nervio óptico no va seguida jamás de reparación del cabo cerebral, como ya notaron Tello y O. Rossi.

2.ª La intercalación de un ingerto nervioso en los labios de la herida óptica puede, cuando las circunstancias son extremadamente favorables, excitar la nutrición y crecimiento de los retoños, induciéndolos á penetrar en el espesor del nervio transplantado. Este hecho, confirmador de los resultados experimentales aportados por Cajal y Tello, habla en pro de la concepción neurotrópica.

3.ª La mera cicatriz conectiva, intercalada entre las cabos nerviosos,

influye también, aunque muy débilmente, en la nutrición y orientación de los retoños.

4.ª La contusión de la esclerótica, y sobre todo la invasión de ésta y la coroides por el tejido conectivo embrionario, constituyen condiciones favorables al crecimiento y orientación de los retoños nerviosos. A las materias tróficas liberadas por el citado tejido se debe quizás la concurrencia de las fibras neoformadas en la capa pigmentaria, después de cruzar en diversas direcciones todas las capas retinianas.

5.ª Durante el paso de los retoños por la retina no necesitan éstos, para crecer y orientarse, el encuentro de conductos preestablecidos, sino que, según demostró Tello, aprovechan al efecto los angostos é irregulares intersticios existentes entre las expansiones dendríticas y los apéndices neuróglicos, así como los mediantes entre las neuronas del mismo estrato.

6.ª Toda detención actual márcase por la transformación del cono de crecimiento en recia bola terminal; el atasco recientemente salvado denúnciase mediante varicosidad de trayecto.

7.ª En fin, como resumen general de todo lo expuesto, confírmase esta verdad tantas veces confirmada por Cajal y corroborada experimentalmente por Tello: la irregenerabilidad de las vías centrales no constituye propiedad esencial é inmutable del protoplasma nervioso, sino resultado contingente de la ausencia en el medio normal de substancias excitadoras del trofismo de las neurofibrillas. Cuando las materias tróficas son artificialmente añadidas al ambiente que rodea los retoños, éstos recobran su capacidad embrionaria de crecer rápidamente, generando ramificaciones casi tan ricas y largas como las producidas en el cabo central de los nervios seccionados.

Réstanos solamente, antes de poner fin á la presente comunicación, expresar nuestro sincero testimonio de gratitud al profesor Cajal, por los consejos con que durante la elaboración de este trabajo nos ha favorecido y por habernos guiado en la interpretación de las preparaciones microscópicas.



Algunos datos experimentales sobre la influencia recíproca de los órganos de secreción interna en el metabolismo hidrocarburado

POR

G. MARAÑÓN

Expresamos en esta comunicación, sólo á título de nota preliminar, el examen del conjunto de los resultados que hemos obtenido hasta el momento presente, reservando para comunicaciones ulteriores el estudio detallado de cada una de las partes que comprende este intrincado é interesantísimo problema.

1.° La adrenalina produce glucosuria marcada, de unas veinte horas de duración, con igual intensidad cuando se inyecta en el peritoneo que cuando la inyección es subcutánea. La dosis mínima, para conejos de un kilogramo, por término medio, es de un cuarto de miligramo, poco más ó menos.

2.° La hipertiroidización, ni brusca ni prolongada, no ha sido suficiente para determinar en nuestros animales la aparición de azúcar en la orina.

3.° La tiroidización lenta y prolongada (durante cuatro meses) del conejo, favorece la acción glucosúrica de la adrenalina.

4.° La adición de extracto tiroideo á la adrenalina, en conejos no hipertiroidizados previamente, no ha modificado, en nuestras experiencias, la acción glucosúrica de la adrenalina.

5.° Los diversos extractos hipofisarios empleados en la Clínica, no han bastado para producir, en nuestros animales, la aparición de glucosa en la orina, aun empleando dosis tóxicas de los mismos.

6.° La inyección de adrenalina adicionada de extracto hipofisario, no sólo no determina mayor glucosuria que la inyección de las mismas dosis de adrenalina, sino que, en repetidas experiencias nuestras, parecía inhibirse la acción glucosúrica de la adrenalina.

7.° Los animales castrados con bastante anticipación son más sensibles á la acción glucosuriógena de la adrenalina que los no castrados.

8.° Si la castración es reciente, esta diferencia no se observa ó se observa poco diáfanamente.

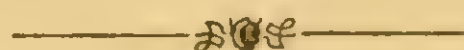
9.° La adición de extracto testicular fresco á la adrenalina, no cohibe la acción glucosúrica de ésta.

10. La castración no parece influir en la falta de acción glucosuriógena de los extractos tiroideo é hipofisario.

11. En el conejo se observan grandes diferencias individuales, respecto á la facilidad para determinar en ellos la glucosuria, por los diferentes medios opoterápicos.

Sobre cada uno de estos puntos que hoy adelantamos en síntesis, volveremos en otras comunicaciones, detallando los protocolos experimentales.

(Laboratorio de Medicina legal de la Universidad de Madrid. — Prof. MAESTRE).



Sobre la presencia de células pseudo-plasmáticas en el liquido cefalorraquideo de la meningitis cerebro-espinal epidémica

POR

GONZALO R. LAFORA

Las descripciones corrientes sobre el estado del líquido cefalorraquídeo en la meningitis cerebro-espinal epidémica coinciden en decir, que el líquido aparece turbio con aumento de la presión, que hay aumento del contenido de proteína y que el examen citológico revela pleocitosis, constituída principalmente por el aumento de los leucocitos polinucleares.

Sólo en algunas publicaciones especiales sobre el líquido cefalorraquídeo, como la de Rehm (1), la de Plaut, Rehm y Schottmuller (2), la de Rieux (3), etc., se anotan bastantes datos sobre la inconstancia de estos caracteres. Así se dice en ellos que la presión no está á veces aumentada; que el líquido es en algunos casos totalmente tansparente y puede aparecer turbio en sucesivas punciones ó viceversa, y que el análisis citológico revela, por lo general, abundancia de leucocitos polinucleares y ninguno ó pocos linfocitos; pero que hay casos en los que dominan los linfocitos, y á su vez casos de meningitis tuberculosa en los que dominan los leucocitos polinucleares. Añaden á esto, además, que la linfocitosis se encuentra en la meningitis cerebro-espinal epidémica, en aquellos casos que han entrado en un período crónico. Esto es de cierto interés, según luego veremos.

Rieux dice que hay dos fórmulas citológicas en el líquido cefalorra-

(1) Die Zerebrospinalflüssigkeit. Histol. und. histopathol. Arbeiten de Nissl-Alzheimer, tomo III, pág. 201.
(2) Leitfaden zur Untersnchung der Zerebrospinalflüssigkeit. Fischer. Jena, 1913.
(3) *Rieux:* Precis d'hematologie et de cytologie. París, 1911.

quídeo de la meningitis cerebro-espinal epidémica, á saber: la clásica y la aberrante. En la forma *clásica* se obtiene en las primeras veinticuatro horas de enfermedad un líquido límpido, en el que predominan los linfocitos con algunas células grandes de tipo endotelial ó conjuntivo y faltan los microorganismos productores. A los dos ó tres días la fórmula citológica es la típica con polinucleosis y con presencia de diplococos de Weischelbaum, intra y extracelularmente. Si el proceso tiende hacia la muerte, esta fórmula no se modifica más que cuantitativamente. Si, por el contrario, tiende hacia la curación, desaparece la polinucleosis y sobreviene la linfocitosis, que puede durar mucho tiempo. En la fórmula *aberrante* hay linfocitosis y ausencia de elementos microbianos, siendo la mayor parte de los casos mortales.

Netter ha observado casos, cuyo principio databa de una semana y más, en los que el líquido era claro y al examen citológico presentaba linfocitosis. Según Dopter, el 2'75 por 100 de los casos presentan linfocitosis.

Los casos de Netter tienen gran semejanza con los nuestros, como luego veremos.

Salabert y Lones (1909) y Netter y Debré (1909), han descrito también casos con líquido límpido y falta de pleocitosis en éste, siendo el cuadro clínico típico, existiendo epidemia y pudiéndose demostrar el meningococo en la faringe nasal y obteniéndose la precipito-reacción de Vincent y Bellot y aglutinación positiva. Se explica el fenómeno por una reacción meníngea atenuada, que no da lugar á diapedesis leucocítica ó linfocítica.

Nos importaba llamar la atención sobre estos datos precedentes, pues en dos casos de meningitis cerebro-espinal epidémica, vistos por nosotros después de diez ó doce días de enfermedad, cuando ya se había producido una rigidez completa de la nuca, la falta de la reacción pupilar (sólo en un caso), la pérdida del conocimiento hacía más de veinticuatro horas, la pérdida de los reflejos tendinosos, la retención urinaria, es decir, síntomas graves de gran avance de la enfermedad, la punción lumbar dió en ambos casos un líquido bastante claro y al examen citológico abundaban los linfocitos.

Se ha dicho que los casos mortales de esta enfermedad no ofrecen apenas pus en el líquido cefalorraquídeo, y que, por el contrario, los casos con purulencia muy manifiesta son los que ofrecen mayores facilidades para la curación, fenómeno bien explicable, pues la polinucleosis no es más que un indicio de la reacción intensa fagocitaria del organismo contra el germen productor de la enfermedad y en los casos graves ó en los que han entrado en una fase crónica, faltando esta reacción defensiva sólo se observa una linfocitosis, como sucede en otros procesos crónicos (pa-

rálisis general, sífilis del sistema nervioso, meningitis tuberculosa, etc.).

Concuerda también este dato con el hecho demostrado por Hough y nosotros (1) en la poliomielitis, á saber, que durante los primeros días de la enfermedad (los dos ó tres días iniciales) se observa una polinucleosis intensa, la cual desaparece luego bruscamente al avanzar la enfermedad, y es sustituída por una linfocitosis con algunas células plasmáticas y hasta alguna que otra célula cebada.

Los dos casos vistos por nosotros presentaron el cuadro típico de la meningitis cerebro-espinal epidémica, y fueron confirmados por el examen microscópico del líquido cefalorraquídeo. Los dos mejoraron bastante después de la segunda inyección de suero meningocócico (Dopter el primero y Merck el segundo), pero esta mejoría duró poco, terminando por la muerte. Vemos, pues, que confirman la regla respecto á la limpidez de flúido y á la linfocitosis. Podemos, pues, de pasada, conceder á estos dos caracteres como signos pronósticos malos.

Lo que principalmente nos interesaba tratar en esta comunicación era la presencia en el líquido cefalorraquídeo de las células plasmáticas que tan frecuentemente se observan en el líquido cefalorraquídeo, y que coinciden morfológicamente con las llamadas por Papadia (2) *células pseudoplasmáticas*, las cuales él deriva de los grandes linfocitos.

El método empleado por nosotros para el estudio citológico de estos dos casos ha sido el método de Alzheimer. Los cortes en celoidina del coágulo fueron coloreados por el azul de toluidina.

Se caracterizan las susodichas células pseudo-plasmáticas por tener un núcleo grande con poca cromatina, la cual se agrupa en dos ó tres esférulas nucleolares hacia el centro del núcleo, en vez de las seis ó siete adosadas á la membrana nuclear que presentan las plasmáticas propiamente dichas. El protoplasma es pequeño, granuloso y bastante metacromático. Este, principalmente, y su tamaño, las diferencia de los linfocitos pequeños y grandes. También el núcleo muestra ligeras diferencias tinctóreas, principalmente con el método de Unna-Pappenheim, según ha descrito Papadia.

(1) *Hough* y *Lafora:* Some findings in the cerebro-spinal fluid in 11 cases of acute anterior poliomyelitis epidemic form. *Folia Neurobiologica*, vol. V, pág. 221.

(2) *Papadia:* Le pseudoplasmacellule in alcune leucocitosi ed encefalite sperimentali, con osservazioni sulla morfologia delle plasmacellule. *Rivista de pat. nervosa e mentale*, fasc. 11, pág. 670, 1910.

Alteraciones especiales del conectivo en la glándula pineal humana

POR

J. D. SACRISTÁN

En la epífisis humana, y formando parte del tejido conectivo, de la glándula, se hallan ciertas fibras de trayecto tortuoso, que forman rizos y revueltas caprichosas, descritas ya por Achúcarro y J. M. Sacristán (1) con el nombre de fibras ensortijadas y que se asemejan á veces á las fibras elásticas, aunque no se tiñen con los métodos electivos de dichas fibras.

Utilizando el proceder del tanino y la plata amoniacal, así como el recientemente ideado por Walter (2), hemos encontrado entre estas fibras, que se destacan intensamente por ambos métodos, unas nuevas formaciones constituídas por anillos de diversos tamaños y no siempre regularmente uniformes. En algunos de ellos se advierte un aspecto granuloso, ostentando otros una constitución como fibrilar y ofreciendo á veces asitas laterales. Las torsiones y tracciones que estos anillos parecen experimentar, producen variaciones morfológicas curiosas, ocasionando figuras en forma de ocho de guarismo, triangulares, ovoideas, etc., pero abundando los anillos uniformemente modelados. De las epífisis examinadas, únicamente en las humanas adultas hemos podido observar claramente estas interesantes formaciones, pudiendo atribuírseles, por la especial abundancia de los anillos en las pineales de viejos, un cierto carácter regresivo. Anillos semejantes, aunque en escaso número, hemos encontrado en el estroma conectivo de un ganglioneuroma del cerebelo, y algo parecido muestran también ciertas alteraciones de la neuroglia, descritas por Achúcarro en la demencia senil, al lado del fenómeno de Alzheimer.

La génesis de estos anillos no aparece claramente: es probable que al enroscamiento de las fibras conectivas, suceda un proceso semejante al de la autotomía nerviosa señalada por Cajal, quedando los anillos completamente libres, tal como los vemos en nuestras preparaciones; en ocasiones, el notable grosor de algunos de ellos, cuya luz aparece muy reducida, hasta pudiera hacer sospechar la posibilidad de que los núcleos

(1) *N. Achúcarro y J. M. Sacristán:* Investigaciones histológicas é histopatológicas sobre la glándula pineal humana. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

(2) *F. K. Walter:* Beiträge zur Histologie der menschlichen Zirbeldrüse. *Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych.* Orig. XII.

de las células conectivas contribuyan á su producción, mediante un proceso de vacuolización y perforación ulterior.

En esta breve nota, queremos poner de manifiesto la semejanza que parece existir entre estos anillos y los producidos en los fenómenos degenerativos y regenerativos de los nervios, si bien de naturaleza totalmente distinta, ya que el proceder del tanino y plata amoniacal nunca impregna las fibras nerviosas.

Es interesante, pues, señalar, de un lado, que los tejidos conectivos, en sus alteraciones patológicas, pueden dar ocasión á la formación de anillos semejantes á los nerviosos y que, por tanto, es ésta una forma general de agregación de las unidades elementales, protomeras y neurobionas.

Ya Cajal (1), en su discurso de inauguración de la Asociación Española para el Progreso de las Ciencias, insinúa ciertas semejanzas entre el crecimiento del conectivo y las fibras nerviosas, que aprovecha en el sentido de conceder una cierta autonomía á las unidades elementales en uno y otro caso.

Al lado de este interés teórico tenemos otro de carácter práctico, al señalar la presencia de los anillos conectivos de la pineal. Cierto, que algunas de las fórmulas del método de la plata reducida de Cajal, tienen una electividad casi absoluta para las fibras nerviosas; pero esto no sucede con todos los métodos usados para el estudio de las mismas. Así, el proceder de Bielschowsky y el de Walter, utilizados por nosotros, tiñen á veces el conectivo intensamente, y puede la ignorancia de que existan anillos de naturaleza conectiva, dar origen á interpretaciones erróneas, atribuyendo á tales formaciones carácter nervioso y regenerativo quizás.

(1) *S. R. Cajal:* Los problemas de la biología celular. Discurso inaugural. Congreso de Madrid, pág. 29-31.

SESIÓN DEL 22 DE MAYO DE 1914

Sobre algunos detalles de la estructura del miocardio



POR

L. CALANDRE

(Con una lámina).

Cuando para el estudio de la estructura del miocardio se hace uso del método de Achúcarro, empleando, como de ordinario, tanino caliente, obtiénense muy bellas preparaciones del tejido conectivo intersticial, que envuelve en una malla de finas hebras á cada fibra muscular. Tíñense también los núcleos y, con alguna frecuencia, las líneas de Krause. Pero si dejamos los cortes por veinticuatro horas en una solución saturada de tanino frío, el resultado que conseguimos entonces es muy diferente. De ordinario, aparecen bien teñidas las bandas obscuras ó birrefringentes de la estriación transversal, dejando ver en su centro la zona de Hensen. Tíñense, también, las piezas intercalares, y éstas, en verdad, bajo el aspecto de bandas transversales anchas que atraviesan total ó parcialmente el espesor de la fibra muscular y limitada por dos bandas obscuras fuertemente teñidas. Todas estas cosas las hemos descrito y publicado ya en unión de nuestro maestro Achúcarro. Pero hoy queremos insistir sobre otro detalle de estructura que nos revela este método con el tanino en frío.

En torno del núcleo, que, como es sabido, ocupa una situación axial en la fibra miocárdica, existe una porción de protoplasma indiferenciado, exento de estriación y que se prolonga por encima y por debajo de los polos del núcleo, constituyendo una masa fusiforme. En esta porción de protoplasma indiferenciado el método de Achúcarro nos ha puesto de manifiesto la existencia de un acúmulo de granitos fuertemente teñidos por la plata (fig. 1). Son estos granos unos corpusculitos, generalmente redondos, sueltos ó en parejas, y de tamaño bastante diverso. Se encuentran, como hemos dicho, acumulados en la zona del protoplasma axial, pero algunos pueden verse diseminados por otros puntos de la fibra, aunque nunca alejados de la región del núcleo.

Unas granulaciones análogas han encontrado E. Luna en el corazón de

algunos mamíferos, trabajando con el método de Golgi, y Sánchez con el proceder de Cajal al urano-formol en las fibras musculares de los invertebrados. Con el método del tanino y la plata amoniacal nosotros no hemos hallado aquellas otras disposiciones filamentosas ni reticuladas que citan estos autores y que refieren al aparato endocelular de Golgi. Sobre la naturaleza de las granulaciones, que seguramente no representan producto de artificio, parece admitirse que se trate de formaciones mitocondriales, y puede que así sea, ya que el método de Achúcarro, en manos de Tello y García Banus, ha revelado claramente las mitocondrias.

Sin embargo, no puede rechazarse la posibilidad de que se trate sólo de simples inclusiones ó de productos de desintegración nutritiva.

También hemos ideado aplicar al estudio de la estructura del miocardio el nuevo método del cloruro de oro de Cajal para la neuroglia, habiéndonos ayudado en ello eficazmente el estudiante Sr. Navarro. Las mejores impregnaciones las obtuvimos obrando de la siguiente manera: Trozos de material reciente, se fijan en formol al 12 por 100; la permanencia en el formol no debe pasar de seis á ocho días; cortes con microtomo de congelación, los cuales se dejan en la fórmula de Cajal (cloruro de oro al 1 por 100, 10; bicloruro de mercurio al 5 por 100, 10; agua, 50) durante veinticuatro horas en la estufa de 32° á 35°; aquí toman un color violado; y, por último, se fijan con hiposulfito de sosa al 5 por 100.

Las preparaciones obtenidas por este método (fig. 2) manifiestan de un modo bastante claro las líneas de Krause, así como también ciertas bandas longitudinales, verosímilmente las fibrillas preexistentes ó tabiques protoplásmicos. Pero, además, nos revela claramente las piezas intercalares ó Schaltstücke, bajo la forma de una banda transversal pálida, bordeada por dos bandas gruesas intensamente impregnadas. Esto confirma poderosamente la imagen que de las Schaltstücke nos daba el método de Achúcarro, bien diferente de la descrita por muchos autores, Heidenhain, por ejemplo.

Creemos que tiene cierto interés disponer de un método de impregnación como el de Cajal, de manejo fácil y de resultados bastante constantes para el estudio de estas piezas intercalares, cuya función realmente aún no se ha determinado con precisión.

Estudio experimental de los caracteres de forma y tinción del virus tuberculoso

POR EL

DOCTOR P. MAYORAL

Con la colaboración de los Dres. R. Lobo y A. G. Gamero.

Vulgarmente, el germen productor de la tuberculosis es un bacilo descubierto por Koch, que se tiñe difícilmente con los colores de anilina, y que, después de teñido, resiste la acción decolorante de los ácidos diluídos y del alcohol, apareciendo como un bastoncito más ó menos largo y delgado, que unas veces presenta en su interior espacios claros, y otras aparece constituído por granos dispuestos linealmente. Este concepto tan limitado se tiene por muchos como dogma, y no consideran como pertenecientes á la especie productora de la tuberculosis á una bacteria, si no reune los citados caracteres.

El virus tuberculoso se presenta bajo formas muy diferentes en los productos patológicos y en los cultivos, y por lo tanto, debe desecharse el viejo dogma que considera al bacilo de Koch clásico, como única forma del agente causal de la tuberculosis; pero la lectura de las publicaciones de los investigadores que se han ocupado de esta cuestión, no permite formar concepto claro de los caracteres de forma y tinción que puede revestir el virus tuberculoso, pues no todos aceptan el mismo número y clase de formas, ni tener idea de la cocatenación de éstas, pues mientras para unos (Kleptzov) constituyen diversos estados de desarrollo, para otros son razas distintas de una misma especie, y para Ferrán especies distintas.

Nosotros, para tener claro concepto de los caracteres de forma y tinción del virus tuberculoso, cuestión que tiene gran transcendencia en la interpretación de su biología y la patogenia de la tuberculosis, decidimos estudiarla en el terreno experimental, único medio de conocimiento perfecto en ciencias biológicas.

Los resultados obtenidos é interpretación de los hechos observados, constituyen la presente Memoria.

Nuestras investigaciones han consistido en observar el mayor número posible de preparaciones de productos patológicos diversos y de cultivos puros de bacilos de Koch, en distintos períodos de su desarrollo, tanto en

medio líquido como sólido, teñidas por los procedimientos fundamentales y por otros originales, que son modificación de aquéllos.

Comenzaremos por exponer las técnicas de coloración empleadas, con objeto de que nuestros trabajos puedan ser fácil y rigurosamente comprobados.

I. *Coloración simple.* — Llamamos así á la obtenida por la fuchina de Ziehl, diluída al décimo ó con el azul de metileno fenicado, actuando durante dos minutos sobre frotes fijados por el calor. Generalmente, después de teñidas las preparaciones por los mètodos de Ziehl y de Gram, teñimos el fondo con el azul de metileno fenicado y la fuchina de Ziehl diluída, respectivamente; de este modo abreviamos tiempo, pues una sola preparación nos demuestra lo que ocurre empleando la coloración simple y el Gram ó Ziehl.

II. *Coloración por el Gram.* — Tinción, durante dos minutos, de las preparaciones fijadas por el calor, con el cristal violeta fenicado. Sin lavar, tratar la preparación con el líquido de Lugol; lavar, decolorar con el alcohol absoluto, hasta que deje de teñirse éste de color violeta; lavar y coloración simple con la fuchina de Ziehl diluída.

III. *Coloración por el Ziehl-Neelsen.*—Teñir en caliente, hasta emisión de vapores, durante tres minutos, con la fuchina fenicada de Ziehl; lavar ligeramente para arrastrar el exceso de materia colorante depositada sobre la preparación; tratar con el ácido nítrico diluído al tercio, hasta descoloración completa; lavar, decolorar con el alcohol absoluto hasta que deje de teñirse de rojo; lavar y coloración simple con el azul de metileno fenicado.

IV. *Coloración por el procedimiento de Much.* — Con la denominación de procedimiento de Much, unos autores describen una técnica y otros otra, que nosotros designamos con las letras A y B; hemos empleado las dos y hemos obtenido iguales resultados.

Much A. — Las preparaciones fijadas por el calor se dejan de veinticuatro á cuarenta y ocho horas en un baño que contiene 1 cent. cúb. de disolución alcohólica saturada, de violeta de metilo B por 10 de disolución de ácido fénico en agua al 2 por 100; después se tratan durante doce minutos con el líquido de Gram; lavar un minuto con ácido nítrico al 5 por 100 de agua; diez minutos con ácido clorhídrico al 3 por 100 de agua; lavar, decolorar con alcohol y acetona á partes iguales, hasta que deje de teñirse en violeta el líquido decolorante; lavar y teñir con fuchina de Ziehl diluída, durante dos minutos.

Much B. — Teñir, durante veinticuatro á cuarenta y ocho horas, con el mismo baño que el procedimiento anterior; tratar con el líquido de Gram, durante cinco minutos; lavar; decolorar con alcohol y acetona á

partes iguales, hasta que deje de teñirse el líquido de color violeta; lavar; teñir con fuchina de Ziehl diluída, durante dos minutos. Si la decoloración con el alcohol y acetona no es completa, se puede tratar la preparación, durante algunos segundos, con ácido nítrico al 5 por 100 de agua.

V. *Coloración por el procedimiento de Spengler.* — Según su autor y otros que lo han empleado, tiñe mayor número de bacilos de Koch que el método de Ziehl.

Las preparaciones fijadas por el calor se tiñen, durante tres minutos, con la fuchina de Ziehl, calentando hasta emisión de vapores; tratar la preparación, durante unos diez segundos, con una mezcla de volúmenes iguales de alcohol de 60°, y disolución acuosa saturada de ácido pícrico; lavar tres veces con alcohol de 60°; lavar; decolorar con ácido nítrico al 15 por 100 de agua; lavar con alcohol de 60° hasta que deje de teñirse de rojo, y tratar de nuevo con la mezcla de alcohol y ácido pícrico; lavar.

VI. *Coloración por combinación de los métodos Zielhl y Gram.*—Hemos empleado las dos combinaciones posibles, de lo que resultan los procedimientos Ziehl-Gram y Gram-Ziehl.

El Ziehl-Gram consiste en teñir las preparaciones por el método de Ziehl, y en vez de dar como coloración de contraste el azul de metileno, se tiñe por el Gram, sin que éste se complete con la coloración de contraste (fuchina de Ziehl diluída). En las preparaciones así teñidas, aparecen con color rojo y violeta obscuro únicamente las bacterias ácido-resistentes y Gram positivas.

El Gram-Ziehl consiste en teñir primero por el Gram y después por el Ziehl, sin dar coloraciones finales de contraste; de este modo sólo aparecen teñidos en rojo y azul obscuro los elementos ácido-resistentes.

VII. *Procedimientos Ziehl-Neelsen A y B.* — Estos, que por abreviar designaremos en adelante con la denominacion Ziehl A y B, son originales, pues aun cuando presentan respectivamente semejanza con los de Wehrli-Knoll (1) y Kronenberger (2), los nuestros son más sencillos, no necesitan reactivos especiales y dan mejores resultados.

Procedimiento Ziehl A.—Las preparaciones fijadas por el calor se tiñen con la fuchina fenicada de Ziehl durante tres minutos, calentándola hasta emisión de vapores; lavar ligeramente para arrastrar el exceso de color, y tratar con el líquido de Lugol durante cinco minutos; lavar; tratar con ácido nítrico diluído al cuarto hasta decoloración completa; lavar; decolorar con alcohol absoluto ó alcohol y acetoma, á partes iguales, hasta

(1) *Beiträge z. Klinik d. Tuberculose*, vol. XIV.
(2) Ibid, 1910, vol. XVI.



que deje de salir color rojo; lavar, y coloración simple con azul de metileno fenicado.

Aconsejamos la decoloración con la mezcla de alcohol absoluto y acetona á partes iguales, pues de este modo es más rápida y perfecta.

Procedimiento Ziehl B.—Las preparaciones fijadas por el calor se tiñen en caliente con la fuchina de Ziehl, hasta la emisión de vapores durante tres minutos; lavar para arrastrar el exceso de color; tratar con el ácido nítrico diluído al tercio hasta decoloración completa; lavar; tratar con el líquido de Lugol durante cinco minutos; lavar; descolorar con alcohol absoluto, ó con la mezcla de alcohol-acetona á partes iguales (de preferencia esta última); lavar y coloración simple con azul de metileno fenicado.

VIII. *Procedimiento de Möller para la coloración de esporas, y modificación de V. Gavina.*— Las preparaciones fijadas por el calor se tratan con cloroformo durante dos minutos; lavar; tratar durante dos minutos con solución acuosa de ácido crómico al 5 por 100; lavar; teñir con la fuchina de Ziehl en caliente hasta emisión de vapores, durante dos minutos; decolorar durante cinco ó siete segundos con ácido sulfúrico diluído al 5 por 100; lavar; coloración simple con azul de metileno fenicado.

La modificación de V. Gavina consiste en sustituir la decoloración por el ácido sulfúrico por los siguientes tiempos: decolorar con alcohol absoluto hasta que deje de salir color rojo de la preparación; lavar; decolorar durante un minuto con la disolución acuosa de sulfito sódico al 1 por 100.

IX. *Procedimiento Ziehl C y D.*—Son muy semejantes al Ziehl A y B, pues sólo difieren en que la decoloración por el ácido nítrico se sustituye por la obtenida con el sulfito sódico al 1 por 100 de agua, actuando durante uno ó dos minutos.

Procedimiento Ziehl C. — Teñir en caliente hasta emisión de vapores, y durante tres minutos, con la fuchina de Ziehl; lavar ligeramente para arrastrar el exceso de color; tratar con el líquido de Lugol durante cinco minutos; lavar; decolorar con la mezcla de alcohol y acetona hasta que deje de salir color rojo; lavar; decolorar durante uno ó dos minutos con la disolución del sulfito sódico al 1 por 100 de agua; lavar; coloración simple con azul de metileno.

Procedimiento Ziehl D.—Teñir en caliente hasta emisión de vapores, con fuchina de Ziehl, durante tres minutos; lavar ligeramente para arrastrar el exceso de color; decolorar con la mezcla de alcohol y acetona hasta que deje de salir color rojo; tratar con el líquido de Lugol durante cinco minutos; lavar; decolorar, durante uno á dos minutos, con la disolución de sulfito sódico al 1 por 100; lavar; coloración simple con azul de metileno.

X. *Procedimiento Ziehl E.* — Igual que el Ziehl C, pero sin tratar la preparación con el líquido de Lugol.

XI. *Procedimiento Ziehl F.*—Teñir con la fuchina de Ziehl, calentada hasta la emisión de vapores, durante tres minutos; lavar ligeramente para arrastrar el exceso de color; decolorar con el formol del comercio (al 40 por 100) hasta que no salga color rojo de la preparación; lavar; coloración simple con azul de metileno.

XII. *Giemsa rápido.* — El líquido de Giemsa que se encuentra en el comercio se diluye en agua destilada en la proporción de una gota de Giemsa por cent. cúb. Las preparaciones, fijadas con alcohol-éter, se recubren con la dilución de Giemsa y se calientan á la llama hasta que comienzan á desprenderse vapores; se sustituye el líquido calentado por otro volumen igual de colorante y se repite la calefacción; esta maniobra se repite otra vez y se lava y seca la preparación.

XIII. *Procedimiento de Neisser para la tinción de los corpúsculos de Babés-Ernst del bacilo diftérico.* — Las preparaciones, fijadas por el calor, se tiñen durante cinco minutos con la siguiente disolución: azul de metileno, 0'1 gramos; alcohol de 96°, 2 cent. cúb.; ácido acético glacial, 5 cent. cúb., y agua destilada, c. s. para 100 cent. cúb. Después de teñir, se lava bien la preparación y se tiñe cinco minutos con una disolución acuosa de vesuvina al 2 por 1.000. Lavar y secar.

* * *

Sería tarea larga y pesada transcribir los cuadros que aparecen en nuestro cuaderno de Laboratorio indicando la clase de producto examinado y el resultado obtenido con cada procedimiento de coloración que hemos descrito; creemos más útil resumir los datos recogidos, describiendo las formas de virus tuberculoso que hemos observado.

1.ª forma. — Bacilos y cocobacilos no ácido-resistentes, que no toman el Gram, que se tiñen por coloración simple con el azul de metileno fenicado y la fuchina de Ziehl diluída, que á veces presentan en sus extremos granulaciones metacromáticas.

Esta forma se observa en cultivos jóvenes en suero gelatinizado, patata y caldo glicerinado, de modo que no deja lugar á ninguna duda por la pureza de los cultivos y por su semejanza con otras formas ácido-resistentes y Gram positivas que se observan en el mismo cultivo.

Esta forma no la hemos observado en el pus de adenitis y osteo-artritis tuberculosas. En esputos que contienen bacilo de Koch se encuentra con mucha frecuencia; en el esputo de tuberculosos existen infinidad de bacterias que nada tienen de común con el virus tuberculoso, y pudiera creerse que alguna de éstas sería la que nosotros hemos visto; tenemos

la seguridad de no haber cometido semejante error. Si observamos atentamente preparaciones de esputo tuberculoso teñidas con el Ziehl-Neelsen, se verá que en no pocos esputos están formando grupo con el bacilo de Koch legítimo otros de idéntica forma teñidos de azul. Además, en preparaciones teñidas con el Gram, hechas con esputos que contienen bacilo de Koch, se encuentran bacilos de forma idéntica al de Koch, que tiñe el Ziehl, que han tomado el Gram, formando grupo con otros de igual forma, pero Gram negativos, y bacilos Gram negativos que contienen granos teñidos por el Gram.

Las precedentes observaciones, aunque muy interesantes, no bastarían para afirmar la existencia en los esputos de la primera forma que admitimos del virus tuberculoso si no estuviera corroborado este hecho por la observación de cultivos puros del bacilo de Koch.

En cultivos puros de bacilo de Koch, en tubérculos de pulmón de bóvidos y de bazo de cobayas, hemos observado que algunas de estas formas que se tiñen por coloración simple con azul de metileno fenicado, presentan granulaciones de color negro ó rojo situadas en los extremos del bacilo teñido de azul, lo que no deja ninguna duda de su naturaleza metacromática.

Hace algún tiempo, antes de que planeáramos el presente estudio, de la sangre de un tuberculoso avanzado, extraída por punción venosa, aislamos por siembra en caldo glicerinado un bacilo no ácido-resistente, con extremos ensanchados y granulaciones metacromáticas, que bien pudiera ser una de estas formas del virus tuberculoso, que podrían persistir y multiplicarse sin adquirir la ácido-resistencia.

2.ª *forma.* — Bacilos cortos que se tiñen uniformemente con el Gram y el Ziehl. Los hemos observado en los cultivos y en esputos; se encuentran en menor proporción que las formas primera y tercera, y en las preparaciones teñidas con el Ziehl A y C aparecen de color violeta claro.

3.ª *forma.* — Bacilos esporulados, generalmente largos, que se tiñen por el Ziehl, en forma de cadena de granos ó de bacilos que contienen espacios claros; contienen granulaciones que se diferencian del resto del bacilo, haciendo actuar el líquido de Lugol ó el ácido pícrico después de teñirlos con el Ziehl y antes de someterlos á la acción de los reactivos decolorantes. Esta es la forma que más abunda en los productos patológicos y en los cultivos.

En las preparaciones teñidas por el método de Much, estos bacilos aparecen en forma de cadenas, constituídas por dos á seis granos perfectamente redondos, de color violeta muy obscuro, contenidos en una delgada zona incolora que los envuelve al modo de las cápsulas que presentan algunas bacterias.

Empleando los procedimientos V, VI, VII y IX, los bacilos aparecen teñidos en rojo por la fuchina, conteniendo un número mayor ó menor de granos violeta idénticos á los que tiñen los procedimientos de Much A y B.

El procedimiento V, ó sea el de Spengler, tiñe menor número de granos violeta ó de Much que el VI, VII y IX; nuestros procedimientos Ziehl A y C tiñen igual número de granos violeta que el procedimiento de Much.

Los resultados obtenidos por nosotros demuestran que las formas granulares del virus tuberculoso que se tiñen por el procedimiento de Much no son distintas de las que se tiñen con el Ziehl, ya que en éstas se puede demostrar la presencia de los característicos granos descritos por Much, haciendo actuar el líquido de Lugol después del colorante de Ziehl.

Hemos investigado cuidadosamente la presencia de formas de Much en gran número de productos tuberculosos (pus de osteo-artritis tuberculosas, tubérculos pulmonares de los bóvidos, pus de adenitis de la tuberculosis experimental del cobaya), y *en ningún caso hemos encontrado formas de Much, con exclusión de las bacilares que se tiñen por nuestros procedimientos Ziehl A y C.*

Hemos observado preparaciones de pus de osteo-artritis tuberculosas y esputos, en las que existen granos idénticos á los de Much, aislados, en las que los demás procedimientos no demostraron formas bacilares ó granos en cadena; pero esto no es suficiente para aceptar como demostradas las ideas de Much; *la presencia de granos aislados, idénticos á los del b. de Koch, no basta para afirmar que un producto patológico es tuberculoso; se necesita, para hacer tal afirmación, que los granos aparezcan formando pequeñas cadenas, imposibles de confundir con estreptococos.*

Hay que tener presente, para juzgar la cuestión de la existencia de las formas descritas por Much, ó sea bacilos y granos que se tiñen por sus procedimientos y no por el Ziehl, que en preparaciones teñidas por los métodos de Gram y de Much, hechas con productos patológicos no tuberculosos, se observan también unos granos idénticos, por su forma y color, á los granos del b. tuberculoso.

Creemos, pues, como nuestro compañero el Dr. F. Coca (1), que el método de Much no aventaja al de Ziehl en la investigación del virus tuberculoso. Los granos violeta aislados que se ven en algunas preparaciones, se observan también en productos no tuberculosos; para concederles valor diagnóstico, deben observarse reunidos en cadena, y, en este caso, los procedimientos Ziehl A y C tiñen los granos y el resto del bacilo.

No negamos la posible existencia de una forma del virus tuberculoso, constituída por *granos aislados*, procedentes de la disgregación del ba-

(1) Congreso de la Tuberculosis. Barcelona, 1910.

cilo de Koch, que no se tiña por el Ziehl y sí por el Much. Creemos que los espacios claros que se observan en los bacilos teñidos por el Ziehl; que los corpúsculos rojos de las formas arrosariadas del b. de Koch, y los granos violetas que se tiñen con el Much, Ziehl-Gram y nuestras modificaciones del Ziehl, corresponden á formas de resistencia del b. de Koch, esporas que pueden reproducir el bacilo cuando, por destrucción de aquél, quedan esparcidas en los productos patológicos y los medios exteriores.

Afirmamos la existencia de esporas del b. de Koch, fundándonos en la semejanza que presenta el b. de Koch y la bacteridia carbuncosa, especie seguramente esporulada. Si teñimos con el Much elementos procedentes de un cultivo de veinticuatro horas en agar, del bacilo del carbunco, veremos que el bacilo carbuncoso presenta el mismo aspecto cromático que el b. de Koch; las esporas aparecen en forma de granos más ó menos grandes, de color violeta, en el interior del bacilo teñido de rojo.

4.ª forma.—Filamentos ramificados, con los extremos ensanchados en forma de maza.

Esta forma la hemos observado en las colonias desarrolladas en la superficie del suero gelatinizado y en esputos de tuberculosos. En los esputos pudiera confundirse con los granos de actinomices; pero nos parece fácil diferenciar éstos de las formas actinomicósicas del b. de Koch, por el menor tamaño de éstas y por resistir al Gram sus zonas ensanchadas ó mazas.

* * *

Si teñimos por los procedimientos de Giemsa y Neisser (números XII y XIII de esta Memoria) preparaciones de cultivos puros del b. de Koch, veremos, en las teñidas por el Giemsa, que la casi totalidad de los bacilos están teñidos en azul pálido, y muchos contienen unos granos rojos, semejantes por su forma y disposición á los corpúsculos que se tiñen por el procedimiento de Much, y á los metacromáticos que se observan en las preparaciones teñidas con el azul de metileno.

En las preparaciones teñidas por el método de Neisser, el b. de Koch presenta un aspecto idéntico al b. diftérico.

Creemos que los bacilos que presentan estos corpúsculos, rojos con el Giemsa y morenos con el Neisser, corresponden á la tercera de las formas que menos hemos observado en la especie b. de Koch.

El virus tuberculoso se presenta por lo menos bajo cuatro formas, en los productos patológicos y en los cultivos; esta variabilidad de formas y el estudio de ellas demuestra que no es una bacteria que debe incluirse en el género *Bacillus*, como lo hacen la mayor parte de los tratadistas clásicos, sino en el género *Cladothrix* de Macé, *Streptothrix* de Cohn,

Actinomyces de Gasperini, *Oospora*, *Mycobacterium* de Lehman y Neuman, que ocupan un lugar intermedio entre los *hypomycetos* ó mucedíneas, y los *schziomycetos* ó bacterias.

Las especies del género *Cladothrix* de Macé, entre los que debe incluirse el llamado b. de Koch, están constituídos por «elementos filamentosos, rectos ó sinuosos, sin vaina, que producen ramificaciones laterales, dispuestas irregularmente; en ciertas condiciones, los filamentos se segmentan en cortos bastones, ó en artículos esféricos ú ovoides, que probablemente deben considerarse como artrosporas».

Los *Cladothrix* patógenos tienen todos una acción semejante sobre los organismos superiores: determinan la formación de tubérculos, de idéntica estructura y marcha clínica que los producidos por el b. de Koch.

Creemos, pues, plenamente justificada, y muy conveniente en el terreno práctico, la conducta de los autores que han sustituído la denominación *Bacillus de Koch* por la del *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptothrix de Koch*, etc. Nosotros, siguiendo la clasificación de Macé, creemos que el virus de la tuberculosis debiera denominarse *Cladothrix de Koch*.

Este cambio de nombre del agente causal de la tuberculosis, del virus tuberculoso, tiene transcendencia práctica, pues entonces ya no nos parecerá cosa extraña como ahora ocurre por estar habituados á considerarle como bacilo, hablar de las múltiples formas que puede revestir y de la existencia de esporas tuberculosas, menos resistentes á la acción del calor que las de las especies del género *Bacillus*.

¿Cuál es la relación de dependencia recíproca, de las distintas formas del virus tuberculoso ó *cladothrix de Koch*? Esta es una cuestión en la que sólo pueden aventurarse hipótesis, pues no hay datos de observación suficientes para juzgarla. Siguiendo á Ferrán, diremos que la primera forma descrita correspondería á la primera fase de desarrollo del germen que, pasando por la segunda, llegaría á la tercera, en que se alcanza la reproducción por esporas; la cuarta forma, que se presenta en condiciones especiales, correspondería á un estado más perfecto de desarrollo del germen, que no siempre puede alcanzar por las condiciones del medio.

La primera de las formas admitidas podría multiplicarse por división directa, sin necesidad de seguir cada individuo las tres fases de desarrollo hasta alcanzar la esporulación, y así se explicaría la posibilidad de obtener *razas* no ácido-resistentes del germen, que se conservan en esta forma durante muchas generaciones.

De nuestros estudios de tinción del virus tuberculoso se deduce que el clásico b. de Koch no es tan difícil de atacar por los reactivos colorantes ordinarios, como generalmente se supone; que la tan renombrada *cera* que lo recubre y defiende, lo mismo de los colorantes que de los anti-

cuerpos que los organismos forman contra él, no tiene, en realidad, una acción tan eficaz como muchos suponen. Nos permitimos creer que, con la misma facilidad con que los colorantes sencillos (Giemsa y Neisser) lo penetran tiñendo electivamente partes distintas de él, lo atacarán los anticuerpos; y si hoy no tenemos un suero ó una vacuna que curen siempre la tuberculosis, ello no es debido á condiciones dependientes de la acreditada *coraza cérea* del bacilo.

* * *

El haber observado cientos de preparaciones de cultivos y productos tuberculosos de todas clases, teñidas comparativamente por las técnicas descritas, nos permite hacer algunas consideraciones acerca de cuál sea el mejor procedimiento de tinción para descubrir la presencia del virus tuberculoso en los productos patológicos.

Al comienzo de nuestros estudios adoptamos como elemento de juicio teñir por cada uno de los procedimientos descritos preparaciones extendidas exactamente igual con el mismo producto y después obteníamos el número medio de gérmenes observados por cada campo del microscopio.

Por este procedimiento resultó que el Spengler, Ziehl A y Ziehl C eran los métodos que permitían observar mayor número de bacilos por campo; pero nos convencimos que este medio de juzgar la cuestión es muy falaz, pues los bacilos de Koch no se reparten por igual en los productos patológicos; preparaciones teñidas por el mismo procedimiento, y hechas en condiciones al parecer idénticas, con la misma porción de producto morboso, daban un número de bacilos muy distinto.

Ultimamente, examinábamos las preparaciones hechas con cultivos homogéneos y veíamos cuáles son los procedimientos que permiten tener mayor número de formas características: más bacilos, ácido y alcohol-resistentes; de este modo hemos observado que los procedimientos Ziehl A, C y F tiñen mayor número de bacilos en rojo que los de Ziehl-Nielsen, Spengler y Ziehl B, D y E, y los Ziehl A y C, y tantos granos violeta reunidos en cadena como el método de Much.

En un esputo procedente de un individuo sospechoso de tuberculosis, en el que el Ziehl nos demostró la existencia de unos bacilos azules que contenían granos rojos, con los procedimientos Ziehl A, C y F se tiñeron de modo que nos permitió asegurar que se trataba del b. de Koch, cosa que se comprobó por inoculación al cobayo.

Los procedimientos Ziehl A y C tienen sobre el F la ventaja de que tiñen los granos de Much. Así, pues, para descubrir la presencia del virus tuberculoso en los productos patológicos creemos que nuestros procedimientos Ziehl A y C son los más convenientes.

(Laboratorio Municipal de Madrid).

Sangría del conejo en la carótida.—Un detalle técnico.

POR

P. MAYORAL

La obtención de sangre del conejo es práctica muy frecuente en los laboratorios para preparar sueros inmunes, aglutinantes, precipitantes, hemolísicos, etc., y para obtener plasma normal destinado á los cultivos celulares *in vitro*. Creo que en todos los casos el procedimiento más perfecto, el que permite obtener mayor cantidad de sangre y el más económico, aunque se sacrifica al animal, es la sangría en la carótida.

De los distintos procedimientos de sangría en la carótida del conejo que he visto y he ensayado, ninguno supera en precisión y sencillez al siguiente, que empleo hace tiempo.

El conejo se sujeta con ligaduras en una bandeja de zinc con los bordes perforados, que permiten pasar y anudar los hilos que atan las patas. La cabeza se fija con una pinza de Kocher, introduciendo profundamente una de sus ramas en la boca y pinzando entre ella y la otra que queda por fuera la pared lateral de la boca; el ayudante se encarga de sostener y tirar de la pinza, de modo que el cuello quede extendido y fijo.

Se forma un pliegue con la piel de la parte anterior del cuello en dirección perpendicular al eje de éste y se incinde con la tijera, agrandando después la incisión con el mismo instrumento para que se extienda desde el esternón á la parte media del maxilar inferior. Se disecan los dos colgajos de piel para que quede bien descubierta la región anterior del cuello en que ha de operarse, y se fijan con dos pinzas de Péan que, por su peso, actúan de separadores.

Sobre la laringe se levanta con la pinza de disecar un pliegue de la aponeurosis superficial y se practica en ella un ojal por el que se introduce la sonda acanalada para incindir la aponeurosis sin herir las gruesas venas de la región, que quedan á ambos lados de la incisión. Después se repite la maniobra para incindir la aponeurosis media; entonces, deslizando la punta de la sonda acanalada de abajo arriba, y á un lado de la laringe y tráquea, de preferencia el izquierdo, y separando los músculos hacia afuera, se descubre la carótida acompañada del pneumogástrico, reconociéndose la arteria fácilmente por su aspecto y latido.

Se diseca la arteria de modo que quede perfectamente aislada en un

trayecto de 3 á 4 centímetros, teniendo cuidado de no romper la arteria tiroidea que sale de la carótida, algo por debajo de la parte inferior de la laringe, hacia la que se dirige siguiendo un trayecto de abajo arriba y de fuera adentro.

Se pinza la carótida en la parte alta con una pinza de Péan y con otra colocada debajo del punto de origen de la tiroidea; una tercera pinza sujeta dicha arteria colateral, cerca de su origen, y se secciona la carótida con las tijeras inmediatamente por debajo de la pinza colocada en la parte alta, y la tiroidea entre la pinza que la sujeta y la laringe. La pinza colocada sobre la arteria tiroidea sirve para llevar el extremo central de la carótida á la boca del recipiente en que ha de recogerse la sangre; aflojando la pinza que cerraba el paso á la sangre, sale ésta á chorro y se recoge sin que se pierda una sola gota.

Si hay que llenar varios recipientes, se pinza otra vez el extremo central de la arteria, suspendiendo con ello la salida de la sangre; con la pinza guía colocada sobre la tiroidea se introduce el extremo de la carótida en el nuevo recipiente y se da paso á la sangre.

Procediendo como hemos dicho, se llega á descubrir la carótida sin que el campo operatorio se llene de sangre, y se puede recoger asépticamente toda la que contiene el animal con sólo un ayudante y con un instrumental que se reduce á una bandeja, una pinza de Kocher, cinco pinzas de Péan, sonda acanalada, bisturí, tijeras y pinzas de disecar.

(Laboratorio de Higiene de la Facultad de Medicina de Madrid).



Sobre el hemocromógeno ácido

POR

A. LECHA-MARZO



No estudiamos en esta nota los métodos para la obtención de los cristales de hemocromógeno y sales de hematina fundados en el tratamiento de la sangre por reductores y halógenos. Hemos dedicado á esta cuestión una serie de notas y dos comunicaciones al Congreso de las Ciencias de Granada. Todos los autores que hemos estudiado el hemocromógeno y sus cristales, hemos hecho uso de substancias básicas y alcalinas, como la piridina, la hidrazina, la sosa, el sulfuro de amonio, etc. El hemocromógeno se forma, por lo tanto, en un medio alcalino.

Fuera del campo de la medicina legal, R. v. Zeynek y F. Pregl obtienen el hemocromógeno con la solución de hidrato de hidrazina al 50 por 100, haciéndola actuar sobre la hematina alcalina.

Ziegler emplea un reactivo compuesto de 10 gramos de sosa en 100 de agua, 5 cent. cúb. de solución de sulfato de hidrazina y 100 cent. cúb. de alcohol de 96°, que actúa sobre la hematina en solución alcali-alcohólica.

Y así multiplicaríamos los ejemplos. Dilling piensa que, según las distintas bases escogidas, se obtienen hemocromógenos de propiedades algo diferentes.

Debo decir solamente que los cristales de hemocromógeno obtenidos por estos métodos son inestables. Cuando en 1907 (en *El Progreso Médico*) anuncié que era posible obtener cristales fijos con la piridina y otro cuerpo, que no tenía como éste propiedades básicas, el ácido pirogálico, nuestras afirmaciones no fueron escuchadas, especialmente en nuestra discusión con Püppe y Kürbitz (de Königsberg) y con la Dra. Eugenia Tymtschouk (de Yaroslaw, Rusia). Sólo Ascarelli las recogió en su Compendio di Medicina Legale.

Los cristales de hemocromógeno pueden formarse en medio ácido. Basta desecar en un porta-objetos una gota de sangre, agregar una gota de piridina y otra de ácido pirogálico (algunos cristales disueltos en agua destilada) y someter al preparado á un ligero calentamiento. De esta manera se obtienen formas cristalinas más voluminosas que las obtenidas por los métodos ordinarios y resisten el lavado con la piridina y el xilol.

He demostrado también que se puede obtener el hemocromógeno por la acción de la piridina, del ácido pirogálico y del ácido acético.

Con Welsch hemos defendido estos resultados en una comunicación presentada á la Sociedad de Medicina Legal de Bélgica, sesión del 29 de Enero de 1912. Corin dijo entonces que se podía hablar de un hemocromógeno ácido.

L. Lattes confirma plenamente mis resultados en una comunicación á la Academia de Medicina de Turín (Preparazione del piridin-emocromogeno in mezzo acido).

La cuestión ha interesado también á Ziemke, una de nuestras más prestigiosas autoridades. Ha escrito el capítulo de manchas del nuevo Tratado del profesor Lochte, y atribuye equivocadamente á Lattes el nuevo método.

Finalmente, nosotros nos permitimos recomendar á los estudiosos esta materia del hemocromógeno ácido. Debe haber diferencias químicas y tal vez espectroscópicas también. Se deberá también estudiar la cristalización del hemocromógeno ácido con la sangre de diversas especies animales.

Contribución al estudio de la reacción de Salomón y Salx

POR

P. VARILLAS Y S. PASCUAL

Salomón y Salx, estudiando el metabolismo de las albúminas en el cáncer, encontraron con mucha frecuencia, en la orina de estos enfermos, un aumento del ácido oxiprotéico. Mientras que normalmente el nitrógeno correspondiente á este ácido representaría el 1'4 á 1'8 por 100 del nitrógeno total, en 80 por 100 de los enfermos cancerosos se encontraría en proporción de 2, 3 á 5 por 100, sin que el grado de caquexia tenga ninguna influencia en este aumento, pues frecuentemente se observaría al principio de la enfermedad, cuando el examen clínico no permitiese hacer el diagnóstico.

Fuera del cáncer, se observaría aumento de este ácido en el embarazo frecuentemente y más rara vez en enfermos de hígado, no presentándose el fenómeno en otras enfermedades. Los autores dan al hecho un cierto valor diagnóstico en caso positivo, excluyendo, naturalmente, la existencia del embarazo.

K. Kondo y Philosoff confirmaron estas ideas; pero, según ellos, la reacción de este ácido no sería aplicable á la clínica por ser de una técnica relativamente difícil.

El ácido oxiprotéico es una substancia aislada por primera vez en la orina por Bondzynski y Gottlieb, y así llamada porque recuerda á las albúminas por su composición, pero contiene más oxígeno. Posee propiedades de albumosas y polipéptidos; da la digestión por la tripsina y por hidrolisis han visto Abderhalden y Pregl que se desdobla en aminoácidos (alamina, leucina, fenilalanina y principalmente glicocola).

Se ha pensado que este ácido sea la substancia madre de la glicocola de la orina, que según Embden y Reese se encuentra normalmente en pequeña cantidad.

La substancia encierra azufre en su molécula, y M. Weiss ha supuesto que una gran parte del azufre oxidable de la orina ó azufre neutral de Salkowski proviene de este ácido. Por este motivo, y siguiendo estas ideas, han estudiado Salomón y Salx como reacción, que tendría un valor análogo á la del ácido oxiprotéico, el comportamiento del azufre neutral de la orina y particularmente de su parte fácilmente oxidable. Sea

éste dependiente ó no del ácido oxiprotético, el hecho es que estos autores encuentran esta fracción aumentada con mucha frecuencia en el cáncer.

Después de una serie de tentativas, establecen una reacción cualitativa, cuya técnica detallada (la que hemos empleado) describiremos luego.

Su fundamento consiste en separar el azufre oxidado, previa precipitación por el cloruro de bario, y del azufre neutral que queda, oxidar la parte fácilmente oxidable por medio del perhidrol, precipitándole luego el estado de sulfato de bario.

La magnitud de este segundo precipitado indicará si la reacción debe considerarse como positiva, negativa ó dudosa. Con este método, los autores examinan 223 casos con el siguiente resultado:

41 cánceres: reacción positiva, 30; reacción negativa, 6; reacción débilmente positiva, 4; reacción dudosa, 1.

122 casos de afecciones distintas: reacción positiva, 7; reacción negativa, 172; reacción débil, 3; reacción dudosa, 1.

La reacción sería, por otro lado, independiente: 1.º Del empleo de la orina de las veinticuatro horas ó de una parte sola. 2.º Del peso específico. 3.º De la alimentación; y 4.º Del grado de caquexia y de desarrollo del tumor.

La reacción ha sido practicada por distintos autores con el resultado siguiente:

Petersen, *en 19 cánceres:* reacción positiva en 17 (89 por 100); en 27, no cancerosos, + en 3 y — en 24 (88'8 por 100 de negativas).

M. Kaldeck, *en 5 cánceres:* 4 +, y en 37, no cancerosos, 8 positivas.

Pribram: reacción positiva en un 60 por 100 de cancerosos, y en 40, no cancerosos, 14 reacciones positivas.

Mazzitelli: en 18 cánceres, reacción positiva en 14 (77 por 100); dudosa, en 1; negativa, en 3, pero ésta fué igualmente positiva en una proporción bastante grande de enfermedades distintas.

Tanfani la estudia en 26 casos de enfermedades mentales con alteración profunda del recambio nutritivo, con 4 resultados positivos.

Marenduzzo, en 15 cánceres, reacción positiva en 11, negativa en 4 é incierta en 1.

Como últimamente Salomón y Salx insisten sobre el valor de la reacción, la hemos practicado en 49 enfermos.

Nos hemos servido del material de las salas de los Sres. Madinaveitia, Durán, y de los enfermos del Instituto Rubio.

Por tanto, los casos de cáncer han tenido comprobación operatoria ó necrópsica, casi todos. De los cuatro cánceres de estómago que nos die-

ron reacción negativa, en uno de ellos se demostró en la autopsia que no era cáncer, y dos no han tenido comprobación; el otro era positivamente cáncer.

NATURALEZA DE LA AFECCIÓN	Número de casos.	R. +	R. —	Dudoso.
Cáncer de estómago	11	6	4	1
Cáncer de hígado (2 con autopsia)	4	4		
Úlcera de estómago	5	1	4	
Tumoración intestinal (?)	1			1
Fibroma de útero (operación)	6	2	4	
Epitelioma de cuello (operación)	2	1	1	
Papiloma de vejiga	3		3	
Cáncer de vejiga	2	1	1	
Tumefacción hipogástrica que parece corresponder á neoplasma; la operación demostró se trataba de un quiste en comunicación con vejiga	1		1	
Tumor de vejiga (?)	1		1	
Epitelioma de labio	1		1	
Linfo-sarcoma de testículo (operación)	1		1	
Tuberculosis renal	4		4	
Hematuria renal (cáncer?)	2		2	
Cirrosis atrófica	2		2	
Enfermedad de Addison	1		1	

La técnica es la siguiente: 100 cent. cúb. de orina se filtran, se determina el peso específico y se hace la prueba del ácido ferrociánico para ver si tiene albúmina; en caso positivo se separa ésta por cocción y tratamiento con ácido acético diluído y filtración.

Se acidula con 10 cent. cúb. de ácido clorhídrico, de peso específico 1'12, y se lleva á cocer. En cuanto empieza la ebullición se añaden 200 cent. cúb. de agua hirviendo, y en seguida, de una solución de cloruro de bario al 10 por 100, si el peso específico de la orina es inferior á 10'20, 10 cent. cúb., y si es superior, 15.

El cloruro de bario se echa gota á gota, sirviéndose de una pipeta. Se tiene el vaso en que se ha hecho la precipitación unas horas al baño de maría, cubierto con un vidrio de reloj hasta que se pose bien el precipitado, y se deja estar veinticuatro horas á la temperatura del laboratorio. Transcurrido este tiempo, se filtra con mucho cuidado, empleando un filtro que no deje pasar el sulfato de bario, las veces necesarias, hasta que el filtrado sea claro. El precipitado que queda al fondo del vaso no se debe echar sobre el filtro. Se recoge el líquido filtrado en un matraz

de Erlenmeyer de unos 500 cent. cúb. de capacidad, se añaden 3 centímetros cúbicos de perhidrol de Merck y se cuece durante un cuarto de hora; se lleva entonces el líquido á una copa cónica y se deja estar veinticuatro horas. Si se forma un precipitado considerable, se da la reacción como positiva. Un precipitado pequeño puede presentarse en casos de reacción negativa. La diferencia debe ser bien clara. Nosotros hemos considerado como positivos solamente aquellos casos en que el precipitado era suficiente para llenar el casquete esférico del fondo de la copa cónica.

Aunque sin dar un gran valor á la reacción como medio seguro de diagnóstico del cáncer, creemos que se presenta con una relativa frecuencia en estos enfermos, para que merezca alguna consideración.

BIBLIOGRAFÍA

Salomón y *Salx: Beiträge zur Karzinomforschung*, 1911; *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1911; *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1912.
Koldek: Wiener Klinische Wochenschrift, 1911.
Kondo: Beiträge zur Karzinomforschung, 1910.
Pribram: Wiener Klinische Wochenschrift, 1911.
Weis: Biochemische Zeitschrift, 1910.
Mazzittelli: Riforma Medica, 1912.
Conpani: Citado por Marenduzzo.
Marenduzzo: Riforma Medica, 1913.

(Trabajo del Laboratorio de Química biológica).



Nota sobre un nuevo método para la coloración del espiroquete de la sífilis

POR

P. DEL RÍO Y HORTEGA

De los numerosos métodos propuestos para la demostración del parásito de la sífilis, solamente el ultramicroscopio permite efectuar rápida y seguramente el diagnóstico microscópico de esta enfermedad. Pero el ultramicroscopio falta á menudo en los pequeños laboratorios, y en todo caso se precisa colorear el treponema, no sólo para el estudio de sus caracteres, sino también para conservar las preparaciones. Necesítase, por tanto, un buen procedimiento de coloración.

La tinta china (método de Burri), que da imágenes negativas muy características, análogas á las ultramicroscópicas, no es de resultados muy seguros.

El método de Giemsa y sus numerosos derivados, tiñen con bastante constancia los espiroquetes; pero los caracteres especiales de éstos, su extraordinaria finura, sus numerosas inflexiones, sus extremos afilados, son difícilmente apreciables á causa de su tenue coloración que, por otra parte, dura muy poco tiempo.

El método de Fontana, consistente en tratar los frotis por una solución de ácido tánico en caliente y después por una solución de nitrato de plata con el amoníaco preciso para redisolver el precipitado, resulta muy semejante en el fondo al que vamos á indicar, pero completamente distinto por su forma y por sus resultados. Tiene los inconvenientes de ser muy inseguro y relativamente lento, de dar abundantes precipitados que ocultan los espiroquetes y de teñirlo sin ninguna finura y escaso contraste con el fondo, cambiando su forma y borrando sus vueltas de espira.

En verdad, ninguno de los procedimientos ordinariamente empleados es completo y esta es la razón de que indiquemos uno nuevo, rápido de ejecución, fácil de técnica, seguro en los resultados, que permite observar fácilmente los espiroquetes con todos sus caracteres y que da preparaciones inalterables.

Es una sencilla aplicación del método de Achúcarro (1).

Este hermoso método de coloración de la neuroglia y el tejido conjuntivo y de tantos finos detalles de estructura celular, logra un nuevo triunfo con esta nueva aplicación.

Desde luego no es posible seguir su técnica exactamente, puesto que el formol es inaplicable como fijador, porque desprende la película de los frotis, y además, los lavados en agua, después de la acción del tanino y de la plata, quitan energía ó impiden la coloración.

En el «Institut für Infektionskrankheiten Robert Koch», donde el doctor Arnheim trabaja constantemente sobre cultivos de espiroquetes y sífilis experimental, hemos utilizado cultivos de treponemas y productos de conejos sifilíticos, procediendo de la siguiente manera:

1.° Fijar durante diez minutos en alcohol absoluto.

2.° Depositar sobre el frotis unas gotas de la solución saturada de tanino y calentar hasta la emisión de vapores abundantes.

3.° Escurrir el tanino, aún caliente, y hacer resbalar por el porta-

(1) Nuevo método para el estudio de la neuroglia y el tejido conectivo. BOLETÍN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOLOGÍA, Octubre 1911.

objetos, por dos ó tres veces, unas gotas de la solución argéntico-amoniacal:

Solución de nitrato de plata al 10 por 100..	5 cent. cúb.
— de sosa cáustica al 40 por 100....	V gotas.
Amoníaco c. s. para disolver el precipitado.	
Agua destilada c. s. para completar........	75 cent. cúb.

4.° Tratar durante un minuto por la solución de formol al 20 por 100.

5.° Lavar en la fuente para arrastrar precipitados.

Si la coloración del frotis es amarillo-pálida, lo que acontece á menudo, debe repetirse la impregnación siguiendo el mismo orden: tanino, plata, formol.

Después de esta segunda impregnación los espiroquetes aparecen siempre teñidos.

6.° Tratar por alcohol absoluto y montar en bálsamo del Canadá.

Con este procedimiento se obtiene la coloración del treponema en negro intenso ó en pardo más ó menos obscuro, contrastando notablemente del fondo amarillo-rojo. Los caracteres morfológicos de aquél, sus vueltas de espira y sus inflexiones, resultan evidentes.

Conviene que advirtamos: 1.°, que es de todo punto indispensable cubrir con laminilla el preparado, porque el aceite de cedro tiene la propiedad de decolorar en poco tiempo los objetos teñidos por la plata; 2.°, que en el caso de que existan precipitados abundantes ó sobrecoloración y la lectura del preparado resulte difícil, podemos decolorarle mediante la solución de Gram, lavar después en alcohol para eliminar el yodo y volver á colorear.

La coloración del espiroquete en los tejidos es un problema aún no resuelto, puesto que el método clásico de Levaditi, tras de exigir larga técnica, es de resultados muy inseguros. Tenemos esperanzas de que el método de Achúcarro lo resuelva y hemos comenzado á emplearlo, pero todavía no podemos decir sus resultados.

(Del Instituto Koch, para enfermedades infecciosas, de Berlín).

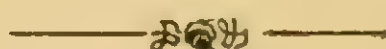




Fig. 1. — Fibra cardíaca. Granitos paranucleares. Método de Achúcarro.



Fig. 2. — Fibra cardíaca. Bandas intercalares reveladas por el método de Cajal para la neuroglia.



SESIÓN DEL 30 DE OCTUBRE DE 1914

Conexiones entre el tejido conjuntivo y las células del carcinoma

POR

P. DEL RÍO HORTEGA

Es creencia unánime de los anatomo-patólogos que las células cancerosas se hallan siempre unidas entre sí tan sólo por un cemento blando, ó como dice Cajal, por su viscosidad y lo ajustado de sus contactos. Nadie admite que el tejido conectivo alveolar pueda penetrar entre ellas y envolverlas en un estroma fibroso.

Describen, sin embargo, en algunos carcinomas la existencia de fibrillas de elacina, que á veces cruzan, como á través de un estuche, por los nidos cancerosos, detalle que se observa principalmente en ciertos cánceres de la mama, particularmente ricos en dichas fibrillas.

En las preparaciones que presentamos pueden apreciarse más íntimas conexiones entre las células epiteliales y el tejido conjuntivo. Trátase de un carcinoma mamario, compuesto de grandes células polimorfas agrupadas en íntimo contacto, conforme lo demuestran los métodos ordinarios de coloración citológica, los cuales, de igual manera que los especiales para el tejido conectivo, no revelan la existencia de fibrilla alguna intercelular.

El método de Achúcarro, que de tan admirable modo tiñe las fibras conectivas, y sobre todo, los tenues hilos de reticulina, invisibles con otras coloraciones, revela en nuestros preparados la existencia de un estroma ó retículo conectivo intercelular notablemente complicado. De los fascículos que siguen á los capilares ó que recorren los espacios linfáticos, surgen tenues fibrillas curvilíneas ó tortuosas que penetran entre los resquicios celulares entrelazadas y anastomosadas unas con otras y forman en torno de muchas células curiosos cestillos. Cuando se observan en cortes de través ciertos espacios linfáticos pequeños, distínguense imágenes estrelladas muy interesantes, como la que representamos en la figura 1.

Las figuras 2 y 3 reproducen algunos tipos de cestillos pericelulares y

la figura 3, B una fibra ramificada y de extremos abultados á manera de botones de crecimiento, algo semejantes á los descriptos por Achúcarro en las fibras penetrantes de los epiteliomas pavimentosos.

La existencia de semejante trama intercelular acredita la flojedad del cemento unitivo de las células del carcinoma, á la que se atribuye por todos su tendencia metastásica; pero al mismo tiempo hace pensar que en algunos casos tales mallas de reticulina deben mantener á las células íntimamente unidas y dificultar su separación.

Solamente hemos estudiado dos tumores, ambos formados por células en íntimo contacto, dispuestas en cordones rodeados de haces conjuntivos. Se precisa, pues, continuar el estudio para determinar la constancia de las redes conectivas en relación con las distintas variedades de cáncer. La variabilidad de los resultados obtenidos dificulta en parte dicho estudio, que nosotros hemos de proseguir con el método de Achúcarro, utilizando como fijador el de Bouin, del que nos hemos servido también para el estudio de los tumores, de que hemos hablado.

(Trabajo del Laboratorio del profesor Letulle en el Hospital Boucicaut, de Paris).



Sobre la existencia de epitelio-fibrillas en las células cancerosas

POR

P. DEL RÍO HORTEGA

Es clásica y universalmente admitida la idea de que entre el epitelioma pavimentoso y el carcinoma existe como fundamental diferencia la textura especial de sus células respectivas. En el epitelioma ó tumor espino-celular, aquéllas, reproduciendo los caracteres de las del cuerpo mucoso de Malpigio y á veces exagerándolos, exhiben un protoplasma surcado de tenues fibrillas entrecruzadas, las cuales, pasando de unos elementos á otros, los anastomosan. En el carcinoma, por el contrario, las células, reproducción más ó menos típica del epitelio glandular, hállanse en absoluto desprovistas de armazón fibrilar, y ni presentan puentes comunicantes, ni se unen de otro modo que por recíprocos contactos.

Ninguno de los métodos generalmente usados para el estudio de estos tumores permite discernir en las células del carcinoma un substratum filamentoso más ó menos complejo que modifique aquella idea y logre es-

P. del Río Hortega: **Conexiones entre el tejido conjuntivo y las células del carcinoma.**

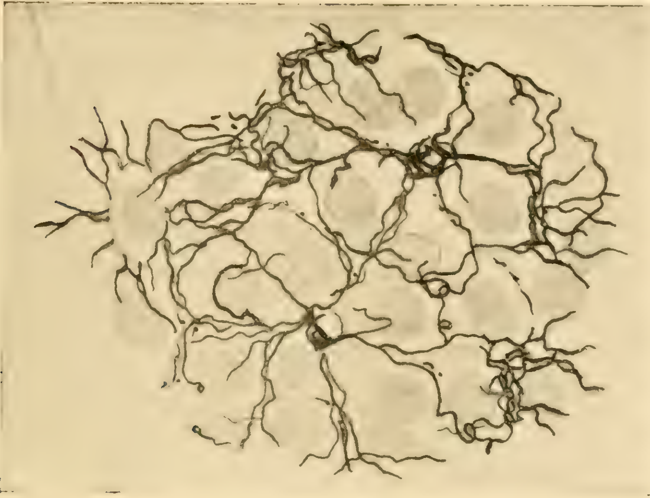


Figura 1.



Figura 2.

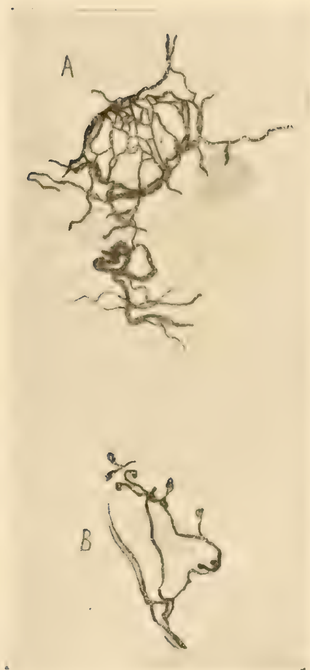


Figura 3.

tablecer claramente el parentesco del epitelioma y el carcinoma y fijar el sello propio de la estirpe ectodérmica.

Estudiando nosotros dos carcinomas de la mama de tipo muy semejante, hemos tenido la suerte de demostrar en las células epiteliales un sistema de fibrillas cuyo carácter más saliente es el notable parecido que ofrecen con las neurofibrillas.

De los numerosos procedimientos de coloración empleados, solamente tiñen las epitelio-fibrillas el de Achúcarro y el de Weigert para la fibrina, si bien los más brillantes preparados se logran con el primero. Las piezas fueron fijadas durante tres días en el líquido de Bouin, lavadas en agua corriente veinticuatro horas y cortadas por congelación y á la parafina.

En nuestras preparaciones con el método de Achúcarro, aparecen las fibrillas epitélicas teñidas en negro ó pardo, perfectamente dibujadas, surcando el protoplasma y envolviendo el núcleo en una interesante red. Son, generalmente, largas y onduladas, á veces casi rectilíneas y en algún caso notablemente flexuosas; de espesor variable, percíbense fibras bastante gruesas y otras finísimas, pero todas ellas siguen el mismo trayecto y se comportan de igual modo, distinguiéndose tan sólo en periféricas, que recorren la célula en toda su longitud sin tocar al núcleo y centrales, que llegan hasta cerca del núcleo y forman á su alrededor un retículo más ó menos apretado, resultante del entrecruzamiento de unas y otras fibrillas.

Ofrecen estas redes perinucleares muy diversos aspectos, y unas veces están formadas por fibras gruesas numerosísimas, que se amoldan íntimamente á la superficie nuclear, cubriéndola de un retículo más ó menos apretado, y otras por fibrillas muy tenues, pero bien coloreadas, que se continúan por largos hilos protoplásmicos. En muchas células, donde tan sólo aparece teñido el cestillo perinuclear, muéstrase éste extraordinariamente simple, constituído por dos ó tres anillos ó asas, que se atan al núcleo, y en otras parece existir una sola fibrilla arrollada sobre la superficie nuclear. No todos los núcleos exhiben la citada red; en muchos falta, como las fibrillas mismas faltan en muchísimas células, lo que puede ser debido á deficiencias de coloración, que siempre ocurren en las impregnaciones argénticas.

Por lo general, las fibrillas epitélicas son independientes y únicamente en algún caso parecen anastomosarse y formar una red verdadera, lo que acontece principalmente en ciertas células en degeneración vacuolar.

Es digno de notar el hecho indudable de que existen fibras que pasan de unas células á otras, estableciendo entre ellas una suerte de tenues anastomosis, en modo alguno comparables por su número ni por su disposición á las de las células malpigianas. Con el método de Achúcarro se

distinguen claramente á veces dichas fibrillas intercelulares, pero el método de Weigert pone mejor en evidéncia su carácter.

La disposición de las epitelio-fibrillas está sujeta á múltiples variaciones, dependientes más acaso de la atipia celular y otras de sus alteraciones.

En los elementos alargados ó fusiformes, siguen aquéllas la dirección del eje mayor de la célula y convergen en los dos extremos, sobre todo en uno de ellos, en el que se reúnen en espeso manojo rectilíneo ó flexuoso. Las células redondeadas ó poliédricas, muestran muy escasas fibrillas, cuya orientación es diversa; pero es en ellas notable la riqueza de la red perinuclear, que muchas veces es lo único que aparece teñido. En las células con prolongaciones, las fibrillas forman haces al nivel de aquéllas y se expanden cerca del núcleo, entrecruzándose alrededor de él. Por último, en las células gigantes y polinucleares su aspecto es muy vario, viéndose en unos casos toda la célula surcada de fibrillas, y en otros solamente un manojo que se dirige hacia uno de los núcleos y le envuelve. En algunas células quísticas existe asimismo una fina red alrededor del quiste.

Las células degeneradas conservan sus fibrillas protoplásmicas, pero obsérvase en ellas cierto apelotonamiento irregular que persiste después de la desaparición del núcleo.

No hemos encontrado en la literatura mención alguna de las epitelio-fibrillas de las células cancerosas y juzgamos de algún interés su conocimiento, no sólo desde el punto de vista de la textura del cáncer, sino también de la de los epitelios en general, ya que es verosímil que el sistema mitoplásmico que hemos descripto reproduzca exagerado el de ciertos epitelios glandulares todavía desconocidos, del mismo modo que en el epitelioma se exageran los caracteres de las células malpigianas. Realmente tan sólo en éstas ha sido bien estudiado el armazón fibrilar, pero las fibrillas que se integran ofrecen analogías morfológicas escasas con las descriptas en el cáncer; sin embargo, el método de Achúcarro y el de Weigert las colorean del mismo modo y esto parece indicar analogías químicas muy dignas de ser tenidas en cuenta.

Heidenhain, además de haber estudiado perfectamente las fibrillas de los epitelios estratificados, ha descripto en los prismáticos ciertos hilillos que desde el borde libre de la célula se dirigen oblicuamente hacia un lado del núcleo, disposición, como se ve, opuesta á la que acabamos de describir en las células cancerosas, en las que aquéllos se expanden al nivel del núcleo y se reunen en los extremos.

Mathews ha señalado también en las células pancreáticas de algunos anfibios la existencia de tenues fibrillas que en cierto modo se parecen á

las del cáncer; pero solamente encontramos figuras y descripciones que concuerdan casi enteramente con las nuestras en el notable estudio de Tello sobre la hipófisis humana. En las células del lóbulo epitelial de la hipófisis encontró Tello, empleando el método de Achúcarro, una red intraprotoplásmica formada por fibras gruesas ó primarias y finas ó secundarias, las cuales, dividiéndose y anastomosándose, formaban dos suertes de retículos: perisomático y perinuclear. En la disposición de estos retículos halla Tello variantes relacionadas con la morfología de la célula, lo que nos induce á pensar que no todas las que nosotros hemos observado dependen de la atipia celular.

La identidad entre las fibrillas del epitelio hipofisario y el epitelio canceroso, parece indudable ya que no sólo la poseen morfológica, sino también química, como lo demuestra sus afinidades tintóreas.

Algo, sin embargo, difiere entre unas y otras, puesto que según Tello las fibras secundarias derivan de las primarias y en nuestros preparados existe independencia completa entre las fibras gruesas y las finas. Asimismo las anastomosis fibrillares indudables en las células hipofisarias no pueden rotundamente afirmarse en las del cáncer, excepto en elementos notoriamente degenerados. Tampoco hemos logrado ver la red perisomática descripta por Tello, estando en cambio la red perinuclear notablemente desarrollada.

Por lo demás, dejando á un lado estas pequeñas diferencias, las observaciones de Tello y las nuestras se complementan y controlan recíprocamente y permiten afirmar la existencia de una organización del protoplasma de las células epiteliales casi insospechada, haciendo pensar que tal vez estas fibrillas existan en todos los epitelios como carácter de familia y más lejos aún, que la fibrilación del protoplasma sea propia de los elementos ectodérmicos.

Si lográsemos ponerla en evidencia en todos los epitelios, á cuyo fin se han de encaminar ulteriores investigaciones, tendríamos la serie completa, ya que los otros tejidos ectodérmicos (nervioso y muscular) poseen el mismo carácter.

Es notabilísimo el parecido de las fibrillas epiteliales y las neurofibrillas. Tello hizo ya notar esta semejanza, sobre la cual insistiremos brevemente. «Es verdaderamente chocante — dice Tello — la analogía que existe entre estas células (las hipofisarias) y las nerviosas». En efecto; recorriendo nuestras preparaciones, hallamos también numerosos elementos que podrían confundirse con ciertas células nerviosas bipolares ó multipolares. Obsérvase la mayor semejanza con las neurofibrillas de elementos embrionarios ó de animales inferiores; muchas redes perinucleares son casi idénticas á las descriptas por Sánchez en los hirudíneos

y á los estados hirudiformes estudiados por Cajal, Achúcarro, Tello y otros en casos de regresión celular patológica.

Es curioso reconocer en las células cancerosas disposiciones reticulares análogas á las encontradas en diversos estados de degeneración neuronal de la demencia precoz y de otras enfermedades por Alzheimer, Perusini, Achúcarro, etc.; pero teniendo en cuenta el origen epitelial de las células nerviosas, no debe extrañarnos tal semejanza.

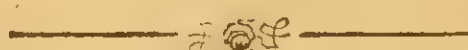
Réstanos decir algo conjeturando la naturaleza de las epitelio-fibrillas.

Desde luego, su existencia y su carácter intraprotoplásmico y perinuclear son indudables; no se trata de apariencias debidas á semicoloraciones del finísimo retículo conectivo intercelular que nosotros hemos descripto; no se trata de formaciones semejantes al aparato de Golgi, con el que no presentan el más pequeño punto de contacto. Tan sólo hemos visto formas del aparato de Golgi, semejantes á las epitelio-fibrillas más gruesas, en algunas células del asta de Ammon de un perro atacado de moquillo. Pero en el cáncer mismo hemos estudiado aquel aparato y sus caracteres no pueden ser más diversos.

Los filamentos de Herxheimer, que forman parte del condrioma de las células epiteliales y que han sido estudiados en casos de epitelioma por Favre y Regaud, recuerdan mucho á las fibrillas que hemos descripto; pero en vez de interpretar á éstas como una especie de largos condriocontos, estimamos, por el contrario, muy verosímil que estos hilos mitocondriales constituyan parte del retículo protoplásmico. Por otra parte, que sepamos, no han sido estudiados en el cáncer los filamentos de Herxheimer. Tello, en el referido estudio sobre la hipófisis, se inclina á suponer en las fibrillas una naturaleza idéntica á los filamentos de ergastoplasma de las células secretoras y á las mitocondrias. Por hoy no puede eliminarse completamente tal hipótesis; pero desde el momento que ninguno de los métodos de coloración de aquellas formaciones sirve para colorear las epitelio-fibrillas y que cuando las mitocondrias se tiñen con el Achúcarro no aparecen tales filamentos, como lo prueban las observaciones de Tello y las nuestras, se puede pensar que mitocondrias y epitelio-fibrillas no tienen relación alguna.

Hoy por hoy no podemos sentar ninguna conclusión y nos limitamos á señalar los hechos observados.

(Trabajo del Laboratorio del profesor Letulle en el Hospital Boucicaut, de París).



Algunas experiencias de ingerto nervioso con nervios conservados «in vitro»

POR

J. FRANCISCO TELLO

En los diversos ingertos de un pedazo de nervio en otro, verificados por Forssmann, Lugaro, Marinesco, Mott y Halliburton, Dustin y Rossi, con ánimo de comprobar la existencia de las substancias neurotrópicas han sido utilizados siempre nervios recién extraídos del mismo animal, de animales semejantes y de distinta especie, con ó sin sección previa para provocar la formación de las substancias neurotrópicas antes de verificar el ingerto. Marinesco demostró la influencia que la vitalidad de las células de Schwann tiene sobre la neurotización del segmento ingertado, y Cajal confirmó y amplió estas observaciones, ingertando nervios muertos por el calor, por magullamiento ó por distintos agentes químicos, cloroformo, formol, hidrato de cloral, etc., siendo la escasa vitalidad de los ingertos, que solamente se nutren por imbibición de los plasmas circulantes, una de las causas de las diferencias observadas entre la neurotización del cabo periférico de un nervio simplemente seccionado y la de los ingertos.

Nuestras experiencias de ingertos de nervios en la corteza cerebral, nos hicieron ver con gran claridad el influjo ejercido por la vitalidad del trozo de nervio ingertado en la atracción de fibras; si el trozo de ciático transplantado se conservaba á simple vista turgente y sonrosado y al microscopio mostraba la estructura de un cabo periférico después de la simple sección, los fenómenos de atracción de fibras de la substancia blanca alcanzaban su máxima intensidad; pero si el nervio estaba reblandecido y amarillo y como formado de series de grandes células gránulo-grasientas, las fibras que llegaban al nervio atraídas por el tejido cicatricial no sentían la más mínima tendencia á penetrar en el nervio.

Por otra parte, hemos tratado, en compañía de La Rosa, de confirmar y ampliar las observaciones de Nageotte y Cajal sobre la supervivencia de los nervios *in vitro*, colocando trozos de ciático de conejo en solución salina al 9 por 1.000, y en los líquidos de Ringer y de Locke dentro de tubos de cultivo esterilizados y en la estufa á 37°. De estas experiencias nos he-

mos de ocupar más detenidamente, bastándonos por ahora indicar que hemos comprobado la acción conservadora del cloruro de sodio y la necesidad de una sal de un metal bivalente para que se verifique una degeneración del axon, semejante á la que ocurre en el cabo periférico de un nervio seccionado *in vivo*, pudiéndose provocar la degeneración del axon en nervios conservados en cloruro de sodio con sólo trasladarlos á líquidos con cloruro de calcio, hechos señalados por Nageotte.

Dada la extraordinaria semejanza existente entre la degeneración del axon en los cabos periféricos de los nervios seccionados *in vivo* y en los conservados *in vitro* en presencia del cloruro de calcio, se imponen los fenómenos observados en estos últimos como manifestaciones de la vitalidad de las células de Schwann, si nos atenemos exclusivamente á un criterio morfológico; pero si se tiene en cuenta la gran analogía de las imágenes histológicas entre la degeneración celular *in vivo* y los fenómenos autolíticos post-mortales señalada por Waldvogel, Hess y Saxl, Launoy, Cruickshank, analogía que continúa en la influencia de la temperatura sobre los fenómenos autolíticos, habremos de ser más cautos en la interpretación del fenómeno. Además, la rapidez de los fenómenos degenerativos observados *in vitro* por Nageotte, coincide con la de los fenómenos autolíticos, y la acción de las sales de metales bivalentes señalada por este sabio concuerda con la aceleración de los procesos autolíticos por las sales de calcio y bario, indicada por Launoy y Brüll.

Para disipar las dudas que nos asaltaron en el comienzo de nuestras experiencias de conservación de nervios en la estufa á 37°, en la interpretación de los fenómenos observados, creímos por las razones dichas que no era suficiente el criterio morfológico; pensamos que si los ingertos de nervios no se neurotizan en cuanto el trozo ingertado posee escasa vitalidad y, según Cajal, cuando están muertos hasta después de ser sustituídos por el tejido conectivo no pasan fibras nerviosas por el sitio que ocupó el ingerto, ingertando los nervios conservados en la estufa, encontraríamos datos seguros sobre la vitalidad de tales nervios.

Con este objeto realizamos una docena de ingertos de nervios conservados en la estufa en solución salina y en los líquidos de Ringer y Locke desde dos días á un mes. Para ello seccionábamos el ciático de un conejo y extirpábamos un trozo aproximadamente de las dimensiones del que íbamos á ingertar; en seguida se colocaba el ingerto sin ningún punto de sutura, procurando de este modo que no sufriera mucho en su vitalidad, y se cosían al plano muscular y á la piel. Sacrificado el animal por el cloroformo, á los quince ó treinta días estudiábamos el ingerto por medio del método del nitrato de plata.

Esta primera serie de ingertos fracasó completamente: en dos, por la

supuración, nos lo pudimos explicar con facilidad; pero en los demás, la explicación no era tan sencilla. Nos encontrábamos los ingertos muy separados del cabo central, apelotonados, amarillentos, blandos y, al microscopio, parecían constituídos por células grasientas, sin que las fibras nerviosas que discurrían por la cicatriz tuvieran la más mínima tendencia á penetrar en ellos. Al mismo tiempo el organismo del huésped se defendía de ellos como de un cuerpo extraño ó muerto por la invasión leucocitaria primero y conectiva después.

Parecía, pues, que á pesar de haber conservado los nervios destinados á los ingertos en perfecta asepsia, dentro de la estufa morían, ó su vitalidad era tan escasa, que virtualmente podían ser considerados como muertos, debiendo atribuirse los fenómenos observados *in vitro* ó después del ingerto á la autolisis. Quedábanos siempre la duda de que, á pesar de nuestras presunciones, las condiciones en que habíamos colocado los ingertos de la pata de conejo fueran las más favorables para su vida; la falta de sujeción en que quedaba el nervio ingertado hacía, sin duda, que durante los movimientos del animal fuera comprimido, cambiado de lugar y apelotonado, y estas acciones mecánicas eran suficientes para acabar con la vitalidad de un nervio que no tiene vasos en que la nutrición ha de verificarse por imbibición de los plasmas que le redean, después de haber pasado muchos días en el termostato.

A modo de contraprueba cambiamos las condiciones del experimento sujetando el ingerto al cabo central, cabo á cabo, por medio de un punto con seda en la parte más alta del muslo, y procuramos que quedara bien extendido á todo lo largo del muslo en lugar del cabo periférico del nervio seccionado que había sido extirpado hasta la corva. Hasta ahora de esta manera hemos procedido dos veces, con resultado altamente satisfactorio, que vamos á describir con detenimiento.

1.° *Ingerto de ciático que había estado veintiún días en solución salina en estufa á 37°, examinado á los diecisiete días de verificado el ingerto.*— En la autopsia percíbese la perfecta unión del cabo central y el ingerto; éste se halla flexionado en su comienzo y adherido á una masa muscular que extraemos con él; de modo que en el trozo que sometemos á la impregnación argéntica se encuentra una porción del cabo central, la cicatriz, el ingerto y masas musculares conservadas de intento, no sólo por su adherencia, sino para poder investigar en lo posible el destino de las fibras que se esparcen desde la cicatriz (fig. 1). Merced á la sujeción en corchos, durante la fijación, como hace Cajal, conseguimos que no haya dislocaciones de la pieza, que embarazarían mucho, posteriormente, en la interpretación de los resultados. Los cortes han sido recogidos en series, pues la flexión inicial del ingerto antes indicada y las pequeñas dis-

locaciones de sus diversos haces producidas por el paso de la seda, impedían obtener una imagen de conjunto en un solo corte, aun procurando que éstos fueran lo más gruesos posible.

Distinguiendo con Marinesco la cicatrización, ó sea la unión conectiva de los dos nervios, de la neurotización ó penetración de fibras nerviosas en el ingerto, podemos afirmar que la *cicatrización* es perfecta en el ingerto que estamos examinando. Entre el cabo central del ciático y el ingerto háse formado un tejido conectivo joven de células fusiformes y estrelladas con grandes espacios plasmáticos, surcado por numerosos vasos nuevos, sin que las células muestren tendencia á una orientación determinada. En la periferia de la cicatriz el conectivo se hace cada vez más rico en haces colágenos y modélase en membranas de varias capas, que se continúan con las que envuelven el nervio y el ingerto.

La porción central de la cicatriz se une con el nervio ciático, sin que sea posible decir dónde termina el uno y comienza la otra, y una cosa análoga sucede con relación al ingerto: en torno de la seda forma una compacta membrana con multitud de elementos pequeños y redondos. En los puntos comprimidos por la ligadura las células fusiformes y los haces colágenos tienen una orientación marcada, como si estuvieran formando un haz comprimido, en su centro, por la seda.

El ingerto ha experimentado interesantes modificaciones en su estructura. Cuando hicimos la transplantación conservamos un pedacito del nervio, que había estado veintiún días en el termostato, y examinado después de impregnación por el método de Cajal, previa fijación en piridina, vimos que, salvo en algún tubo y en la parte próxima al sitio de la primitiva sección, en que el cilindro del eje estaba fragmentado y habían comenzado á formarse cavidades digestivas, la casi totalidad del nervio conservaba su estructura, como si acabara de ser extraído de la pata del animal. A los diecisiete días de permanencia en el nuevo huésped el aspecto es completamente distinto. Como hemos indicado antes, el ingerto hállase doblado, de modo que, á partir de su unión con el ciático, sigue una dirección completamente transversal, perpendicular á la del ciático normal, y después de un largo trecho retrocede por el mismo camino, hasta ponerse de nuevo enfrente del ciático, descendiendo desde este momento como si se tratara del cabo periférico (fig. 2); pues bien, el aspecto del ingerto no es igual en todas sus porciones, debiendo distinguirse la parte que corresponde á la flexión de los trozos rectos. En éstos la estructura corresponde á la de un cabo periférico de una sección simple de nervio de la misma fecha, es decir, quince ó veinte días; se han formado las bandas de Büngner con numerosas cavidades digestivas, donde se ven todavía algunos restos del axon con fagocitos carga-

dos de grasa, generalmente varios en la misma cavidad, y lo mismo ocurre en las regiones centrales que en las periféricas. Al nivel del recodo sólo los tubos de una delgada capa periférica son como acabamos de decir; á medida que van estando más profundos, la evolución ha progresado menos, encontrándose en el centro numerosos haces de cilindros-ejes intensamente impregnados, sin la menor señal de fragmentación y con las vainas de Schwann completamente normales al parecer; su aspecto corresponde en todo al de las fibras conservadas. Entre los haces de fibras conservadas se ven aglomeraciones de fagocitos, sin inclusiones de grasa en su interior. En la iniciación del ingerto, es decir, en el punto en que se continúa con la cicatriz, no se ven claramente las bandas, apareciendò constituído por numerosos fagocitos con gruesas inclusiones grasientas, con tabiques conectivos intercalados y numerosos vasos, que penetran desde la cicatriz y marchan después á lo largo del nervio.

Finalmente, en el cabo central las modificaciones observadas no difieren en nada de las que se producen en la simple sección. El neurilema se continúa con la periferia de la cicatriz y el perineuro y endoneuro con la porción central, sin que se sorprendan límites claros entre el conectivo correspondiente á la cicatriz y al nervio, y como vimos en los ingertos en la corteza cerebral, parécenos que también en la formación de esta cicatriz juega un papel importante el conectivo intertubario.

Neurotización.—El crecimiento de las fibras nerviosas del cabo central del ciático ha seguido la misma marcha que en los casos de simple sección. y su aspecto en estas preparaciones corresponde perfectamente á los diecisiete días transcurridos desde la sección. Apercíbese claramente la zona que ha experimentado la degeneración traumática por la formación de cámaras digestivas, con algunos restos de axones; pero todos los estuches hállanse materialmente rellenos de fibras nuevas, resultantes de la neoformación colateral, que, si bien de ordinario marchan directamente hacia la cicatriz, también con frecuencia exhiben trayectos helicoidales y engendran los conocidos ovillos. Sorpréndense también fibras retrógradas y mazas detenidas.

Tan pronto como llegan á la cicatriz, cada paquete de fibras, correspondiente á un estuche, continúa su marcha, envuelto en una vaina conectiva común, pero pierden el relativo paralelismo que en el nervio tenían, siguiendo variadas direcciones, aunque conservando en líneas generales la tendencia á marchar hacia el ingerto. A medida que van profundizando en la cicatriz se van disociando las fibras de cada haz, y en las proximidades del ingerto las fuertes corrientes de fibras que, sorteando los obstáculos creados por el punto de sutura tratan de llegar á él,

muestran sus fibras, independientes por completo. En la periferia muchas fibras se extravían en los tejidos próximos, conectivo y muscular, engendrando arborizaciones, de que más tarde nos ocuparemos.

Inmediatamente que penetran en el ingerto las fibras marchan de una manera decidida por las bandas de Büngner, por entre éstas ó siguiendo con frecuencia los vasos que desde la cicatriz en él se introducen. El número de fibras, como se ve en la figura, es bastante grande, pero á medida que se observan porciones más próximas á la porción acodada del ingerto el número decrece y al otro lado, ya en la porción recta las vainas están completamente vacías de fibras, y sólo muy raramente vense algunas que después de haber acompañado al nervio un trayecto más ó menos largo, envolviéndole con sus giros, encuentran un punto vulnerable, y sin titubeos penetran en él; pero de las que penetraron por la cicatriz, ni una sola ha conseguido salvar el obstáculo insuperable representado por la acodadura del ingerto. En el trayecto de las fibras existen retrocesos, ramificaciones y gruesas bolas con los caracteres de las detenidas en su progresión; las pocas que llegan hasta la porción comprimida suelen estar terminadas por bolas pequeñas todavía en plena actividad al parecer.

Interpretando los hechos descriptos vemos detenerse una neurotización que había comenzado pujante en el codo del ingerto, pero acostumbrados á ver marchar las fibras nerviosas en los procesos de regeneración por sitios más intrincados y difíciles, no creemos que la detención se deba á dificultades mecánicas simplemente, sino que ha constituído el principal obstáculo el estado de vida precaria ó nula de las vainas de Schwann, correspondientes á la porción acodada, manifiesta en la falta de transformación de las fibras nerviosas del ingerto, en la no formación de las bandas de Büngner y en la carencia de substancias neurotrópicas para las fibras que llegan desde el cabo central del ciático.

1.° *Ingerto de ciático que había estado veintiún días en estufa á 37° en solución salina, examinado á los veintiún días de haber sido fijado en la pata del huésped.*—En la autopsia, la unión del cabo central del ciático con el ingerto puesto en lugar del largo trozo extirpado, era perfecta, señalándose por un ligero engrosamiento el sitio correspondiente al punto de sutura; la dirección de los dos nervios, la misma, y como el ingerto tenía un color sonrosado que contrastaba mucho con el amarillo de los que no se encuentran en buenas condiciones para su nutrición, no diferenciándose en nada del cabo central del ciático, daba completamente la idea de un caso de regeneración sencilla después de la simple sección del nervio. Solamente en la parte inferior, la terminación del ingerto hallábase retorcida, pero, como veremos, no mostraba señales de mala nutrición como la porción acodada del caso anterior. Para su examen histoló-



Figura 1.

J. Francisco Tello: Algunas experiencias de ingerto nervioso con nervios conservados «in vitro».



Figura 2.

gico hemos procedido como en este, recogiendo en un sólo bloque el cabo central del ciático, la cicatriz, el ingerto y buena cantidad del tejido muscular circundante, con objeto de sorprender el comportamiento de las fibras que irradian del cabo central.

La *cicatrización* ha sido igualmente perfecta; están tan bien unidos los dos nervios que es imposible determinar el punto preciso donde uno termina y comienza el otro; en cuanto al comportamiento del tejido conectivo en general, habríamos de repetir lo dicho antes, así es que á aquella descripción nos remitimos.

El ingerto ha conservado una gran vitalidad, no habiendo dejado en él la más mínima señal, ni la larga permanencia en la estufa, ni la colocación en el animal de nuevo. El trocito separado antes de ingertar se muestra en un admirable estado de conservación, es decir, como si acabara de ser colocado en la solución salina, y la porción mayor ingertada á los veintiún días de permanencia en el animal exhibe un aspecto idéntico al del cabo periférico del nervio ciático, después de un tiempo igual de la simple sección y conservado en el propio animal; se fragmentaron los axones, se constituyeron las bandas de Büngner con numerosas cavidades digestivas que engloban restos axónicos y numerosos fagocitos, teniendo éstos una robustez y una apetencia por la plata mucho mayor que en el caso antes dicho.

La *neurotización* es completa. Basta echar una ojeada á la figura para comprender que no estaría ésta más adelantada si se tratara simplemente de la regeneración del cabo periférico, conservado *in situ* con todo género de precauciones, para evitar alteraciones circulatorias que menoscaben su nutrición, y para eliminar los obstáculos que puedan oponerse á la libre llegada de las fibras del cabo central.

En el cabo central la zona que ha experimentado la degeneración traumática es escasa, pero la neoformación de fibras colaterales es activísima, estando las bandas repletas de fibras y habiéndose formado numerosos ovillos. Los haces de fibras convergen hacia el ingerto y al llegar á él se precipitan en las tres porciones que le constituyen: dos gruesas, correspondientes á las dos ramas en que se divide en la corva, cuya individualización se mantiene en casi toda la extensión del ciático, y otro pequeño ramo muscular. Ya dentro del ingerto, no se distribuyen uniformemente, pudiéndose distinguir tres zonas: una, *marginal*, que apenas tiene fibras, colocada inmediatamente por debajo del neurilema; otra, *profunda*, que forma el eje del nervio, más extensa y con más fibras, y otra, *intermedia*, más ancha que las otras dos y con la mayor parte de las fibras; naturalmente, en las secciones por nosotros dibujadas vense cinco zonas dentro de cada una de las porciones gruesas del ingerto, pero

se debe á que por su forma cilíndrica, las dos zonas, intermedia y marginal, muéstranse á cada lado de la profunda ó axial.

La mayor parte de las fibras marchan por las bandas, mostrando un comportamiento igual al de las regeneraciones simples, que tan minuciosamente ha sido estudiado por Cajal. A medida que se aproximan á la terminación inferior del ingerto, retorcida como hemos indicado antes, su número disminuye gradualmente, y ya en ésta, cuesta gran trabajo el encontrar alguna fibra. Aunque en la terminación retorcida las bandas están perfectamente desenvueltas, se impregnan bien con la plata y no hay acúmulos extraños de fagocitos, ni ningún otro factor que permita suponer una mala nutrición por compresión del nervio; es indudable que las fibras nerviosas que mostraban un rápido crecimiento, en tanto que caminan por la porción recta, así que se aproximan á las porciones encorvadas, se van deteniendo en su desarrollo. Podría pensarse también en este caso, que no han tenido tiempo de llegar hasta el cabo inferior del ingerto, pero nos extraña que por lo menos unas cuantas fibras, las más precoces en asaltar el ingerto, no le hayan recorrido en toda su extensión y salven la porción acodada.

SESIÓN DEL 22 DE ENERO DE 1915

Sobre el tejido conjuntivo en los ganglios sensitivos y simpáticos

POR

LUIS FORTÚN

El escaso conocimiento de la disposición adoptada por el tejido conjuntivo en los ganglios del sistema cerebro-espinal y simpático — puede decirse que en ellos sólo se ha mencionado su existencia—, por una parte, y los resultados obtenidos con nuevos métodos, especialmente de aquellos basados en la impregnación argéntica, para la demostración de este tejido, nos ha inducido á emprender este estudio.

El material que hemos usado ha sido ganglios espinales, plexiforme y cervical superior del hombre, gato, perro, conejo y carnero.

Casi exclusivamente hemos empleado el método de Achúcarro, que tan excelentes resultados, especialmente para la variedad reticular, ha dado en manos de éste, de Ranke, Calandre, Del Río, Banús, etc., en tumores,

centros nerviosos y otros órganos. El material humano de ganglio cervical superior, que es donde más fácilmente hemos obtenido buenos resultados, era viejo de un año en formol.

En éste hemos conseguido excelentes preparaciones, incluso suprimiendo el baño de tanino; por el contrario, en el restante material hemos tenido necesidad de calentarlo fuertemente en aquél para obtener resultado. En algunas preparaciones se ha hecho coloración de fondo con fuchsina ácida para tinción de protoplasmas.

El método de von Gieson, el del sublimado y cloruro de oro de Cajal, el azul de toluidina, se han empleado para comprobaciones.

El ganglio cervical superior humano se presenta rodeado de la cápsula, de aspecto colágeno, con su capa interna compacta y externa laxa, disposición descripta por Michailow, encontrándose en esta capa externa las células de grasa, cubierta cada una inmediatamente por una estrecha malla conjuntiva, de mayor finura que la encontrada corrientemente en esta clase de células. En su interior, las células nerviosas están dispuestas en islotes rodeados por los numerosos haces de fibras nerviosas, que atraviesan el ganglio.

El tejido conjuntivo de los islotes celulares, perteneciente á la variedad reticular, envuelve y penetra entre la totalidad de los elementos en ellos contenidos. Alrededor de las células nerviosas se dispone en complicadas redes, verdaderos cestos, que las rodean, ocupando el lugar correspondiente á la cápsula ya de antiguo conocida. Sobre las expansiones nerviosas se dispone en análogas redes que originándose en los cestos pericelulares al llegar al complicado plexo que forman estas expansiones nerviosas entre las células, se disponen en un inextricable retículo, en el que es imposible distinguir una disposición fundamental. La figura 1 da idea de la estructura descripta.

Es interesante la disposición dada en la figura 2, correspondiente á las células glomerulares de Cajal, en las que se ve el conjuntivo formando parte íntimamente del glomérulo.

En los haces de fibras nerviosas se encuentra el tejido conjuntivo entre los tubos nerviosos, dispuestos, no ya en la forma antes descripta, sino como fibras longitudinales, adoptando la mayor parte de las veces un carácter análogo al descripto por Cajal en un reciente trabajo sobre la estructura de los tubos nerviosos, aunque en otros casos queda dudoso que sea la sección óptica de una vaina compacta más ó menos granulosa.

Es interesante de todos modos el hecho que en varias preparaciones queden teñidos estos sitios en pardo claro, mientras el tejido reticular de los islotes celulares se tiñe fuertemente en negro.

En los animales los ganglios simpáticos están dispuestos de modo semejante, pero están las células nerviosas más próximas, faltando los abundantes haces de fibras nerviosas. Los elementos celulares de naturaleza no nerviosa son más abundantes. En un perro de quince días se encuentran éstos en enorme cantidad, presentándose los núcleos alargados y retorcidos, siendo el elemento fibrilar mucho menos abundante que en los demás.

En el conejo tiene el tejido reticular un aspecto más parecido al que habitualmente se encuentra en otros órganos: corazón, testículo, hígado, etc., en cuanto las fibras se presentan más definidas y no con aspecto como desfilachado, que es el que hemos encontrado en los otros ganglios simpáticos.

En el carnero encuéntranse fuertes trabéculas de tejido colágeno, abundantes en vasos que atraviesan y dividen el ganglio (Michailow).

En los ganglios raquídeos no se logran poner en evidencia estructuras semejantes á la descripta. Está el ganglio atravesado por haces de tejido colágeno que claramente se ven desprenderse de la cápsula del ganglio. Se encuentran las células muy próximas entre sí, y en su cápsula, claramente limitada, no nos ha sido dable hasta ahora demostrar la disposición en complicados cestos como los descriptos en los ganglios simpáticos.

En el hombre, en un caso de esclerosis en placas, hemos encontrado, tanto en los espacios comprendidos entre las células como sobre las cápsulas, numerosísimas fibras, con la consabida disposición en cestos, pero de un tipo claramente colágeno. No habiendo aún tenido ocasión de estudiar ganglios de individuos normales, no podemos saber si esta mayor riqueza fibrosa es general en él ó si no se encuentra, ó se encuentra con otra disposición más semejante á la hallada en el simpático, en cuyo caso sería patológica esta forma.

Con el método de Van Gieson se tiñen los ganglios sensitivos, viéndose la cápsula celular (su contorno) claramente teñida. Unido esto al aspecto que las preparaciones con el método de Achúcarro nos ofrece, podemos asegurar la naturaleza colágena del tejido conjuntivo en esta clase de ganglios.

Los simpáticos no se tiñen ó sólo vagamente lo hacen, comportamiento que ya sabemos es peculiar del tejido reticular frente á la picro-fuchsina.

¿Qué relación tienen las formaciones conjuntivas descriptas con las cápsulas de las células?

Se suponen éstas formadas por una capa de tejido endotelial (Schwalbe), teñida primeramente por Fraentzel con nitrato de plata reducido á la luz, quien suponía era de naturaleza epitelial. Sobre esta capa se



Fig. 1.—Ganglio cervical simpático humano. Cestos pericelulares y peri é inter-dendríticos (método de Achúcarro).



Fig. 2.— Célula glomerular. Tejido conjuntivo (método de Achúcarro).



encuentra una membrana hialina tingible por el método de Ehrlich y sus modificaciones, mencionada por Michailow, Dogiel, Huber, que incluso afirma su existencia sobre las prolongaciones nerviosas. Encima de ésta se encontraría una capa de tejido conjuntivo que sería únicamente la más próxima del tejido intersticial (Michailow, Lenhossék).

Probablemente á esta última capa de tejido conjuntivo corresponden los cestos descriptos; pero la imposibilidad de teñir en una misma preparación todas estas clases de estructuras, nos impide afirmar su particular autonomía, como el que no sean diversas evidenciaciones de una sola, cosa que podría suceder con la membrana teñida por el azul, de posible naturaleza conectiva.

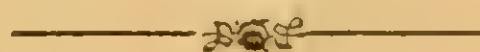
En los ganglios simpáticos del hombre se ven células satélites (Cajal), cuyos núcleos, teñidos en negro por el proceder del tanino y plata amoniacal, se encuentran alguna vez alargados ó diversamente contorneados. Cajal, hace ya tiempo, empleando el método de Golgi, encontró elementos provistos de expansiones que consideraba de naturaleza neuróglica. En preparaciones hechas con su método de sublimado y cloruro de oro no hemos podido encontrar esta clase de células. Parece, pues, probable que no exista neuroglia en estos ganglios, teniendo en cuenta la existencia de un tercer elemento de los centros nerviosos, al que el mismo hace corresponder las células satélites.

En el ganglio cervical superior de los animales no se encuentran casi nunca de estas células (Lenhossék).

¿A qué obedece la diferencia de estructura entre los ganglios simpáticos y sensitivos?

Desde luego puede afirmarse que la presencia de numerosas prolongaciones nerviosas en los ganglios simpáticos, que ya hemos visto, están rodeados de tejido conjuntivo, determina el aspecto peculiar encontrado en estos ganglios, pero que éste sea de tipo reticular, á semejanza del que se encuentra en las glándulas, y en oposición con los otros ganglios nerviosos nos podría hacer pensar en alguna actividad especial de estos ganglios, tal vez de orden secretorio.

Fundándose en la existencia de tejido mesodérmico y ectodérmico, separado por una membrana hialina (cápsulas celulares), ya habla Michailow en su extensa Monografía sobre el sistema simpático central, de una posible actividad secretoria de las tales cápsulas, dado que en todos los órganos donde existe análoga disposición se encuentra dicha actividad.



Contribución al estudio del aparato endocelular de Golgi de los granos de la corteza del cerebelo

POR

M. MARCELO SÁNCHEZ

Aconsejados por nuestro maestro Cajal, hemos emprendido el estudio detallado del aparato endocelular de Golgi en los diversos elementos que integran la corteza del cerebro y cerebelo; por el pronto sólo nos hemos ocupado del cerebelo, y muy especialmente de los singulares organitos que anidan en el protoplasma de las células conocidas con el nombre de granos, cuya naturaleza nerviosa fué demostrada por el sabio Cajal, que las denominó células de cilindro-eje bifurcado.

El estudio detallado del aparato endocelular en los granos del cerebelo, tiene cierta importancia por la variedad tan enorme de los citados organitos, pues muy bien puede decirse que cada grano posee su aparato especial, característico, que le distingue de los demás.

Hasta ahora, en el curso de nuestras investigaciones, nos hemos servido únicamente del excelente método del *urano-formol*, de Cajal, que tiene la singular propiedad de impregnar selectivamente el citado aparato de Golgi. No vamos á entrar en detalles sobre la manera de proceder con dicho método, pues las diversas manipulaciones y tiempos de que consta han sido publicados por el maestro en esta misma Revista (1). Unicamente consignaremos que las piezas histológicas las hemos tenido doce horas en el fijador y otras tantas en el reductor, y que la solución de plata (nitrato) empleada fué al 1 $^1/_2$ por 100.

Los animales de que nos hemos servido en nuestras investigaciones han sido el gato, conejo y perro de pocos días, pues la experiencia ha enseñado á cuantos trabajaron con este método que los resultados son brillantes cuando los animales empleados no tienen más que unos cuantos meses de edad (Cajal, Fañanás, etc.). En la mayoría de nuestros preparados se observa que cuando el aparato de Golgi está bien impregnado en los granos, lo está bastante mal en las células de Purkinje, en las

(1) *S. Ramón y Cajal:* Comunicación á la Sociedad Española de Biología, 21 de Junio de 1912. Con más detalles ha sido publicado dicho método en los *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas*, con el siguiente título: «Fórmula de fijación para la demostración del aparato de Golgi», etc.

que permanece invisible por aparecer todo el protoplasma como una mancha obscura en donde difícilmente se aprecia detalle alguno de la red endocelular; por el contrario, cuando la reacción ha salido bien en las células de Purkinje, en los granos está tan débilmente teñida, que sus contornos aparecen mal limitados y como esfumados en el protoplasma en donde anidan.

A nuestro sabio maestro se debe el descubrimiento del aparato endocelular de los granos del cerebelo, el cual lo describió (1) como un divertículo extremadamente delicado, muy corto, de forma tubular, colocado cerca del núcleo y, generalmente, enfrente de un territorio protoplásmico relativamente abundante.

Tocante á la función que desempeñen los citados organitos en los granos poco hemos de decir, dada la escasez de datos que sobre el papel del aparato de Golgi poseemos; lo que desde luego podemos afirmar es que el citado aparato jamás comunica con el exterior; de modo que mal puede servir para que se verifique el intercambio de substancias nutritivas entre el ambiente pericelular y el protoplasma, como creen Holmgren y sus discípulos (2) que pasa en otras células nerviosas de distintos tejidos. Entrando ya en la descripción particular de los aparatos endocelulares, diremos que, no obstante haber una serie numerosísima de ellos, artificialmente podrían agruparse en la forma en que nosotros los vamos á describir.

I. *Forma granular.* — Es, seguramente, la forma más abundante; se presenta el aparato endocelular de esta especie como un gránulo brillante, de contorno liso, situado al parecer tocando al núcleo; á esta modalidad corresponden los copiados en las figuras 8, 9 y 10; no es raro sorprender, aquí y allá, dos gránulos exactamente iguales tocándose por un punto, y algunos otros de forma de huso. La interpretación que damos de este hecho es la siguiente: puesto que los citados gránulos son incluídos entre las histómeras (3), muy bien podría ocurrir que alguno de ellos se hubiese segmentado en dos; en este caso, la figura en huso representaría un estadio intermedio de la supuesta división directa.

II. *Formas irregulares.* — Son también bastante abundantes, y se hallan indistintamente en el cerebelo del gato, perro y conejo; suelen presentarse como masas informes, al parecer constituídas por granulacio-

(1) *S. Ramón y Cajal:* Les conduits de Golgi-Holmgren du protoplasma nerveux et le réseau péricéllulaire de la membrane. *Travaux du Laboratoire de Recherches Biolog.*, tomo VI, 1908.

(2) *Holmgrem (Emil):* Ueber die Trophospongien der nervenzellen. *Anatomischez Anzerger.* Bd. XXIV, 1904.

(3) *S. Ramón y Cajal:* Asociación Española para el Progreso de las Ciencias. Discurso inaugural, 1912.

nes, que están situadas en una atmósfera especial del protoplasma. Tales son las representadas en las figuras 4, 6, 7 y 11.

III. *Forma en semianillo.* — Es más rara que las anteriores, y se presenta afectando dos modalidades: ó envuelve á la mitad del núcleo, como la dibujada en la figura 13, ó está como atrofiada, representada por minúscula horquilla, como la dibujada en la figura 5, que ha sido copiada de un soberbio preparado de Cajal.

IV. *Formas relativamente complicadas.* — Los aparatos que incluimos en esta categoría son los más curiosos; en primer lugar citaremos el representado en la figura 1, que parece constituído por varios bastoncitos insertos en un punto del núcleo y alojados en una atmósfera especial protoplásmica; también son muy interesantes las formas representadas en las figuras 12, 14 y 15, en las que se advierte la forma clásica del organito endocelular, siendo dable observar los abultamientos y los puentes que los unen.

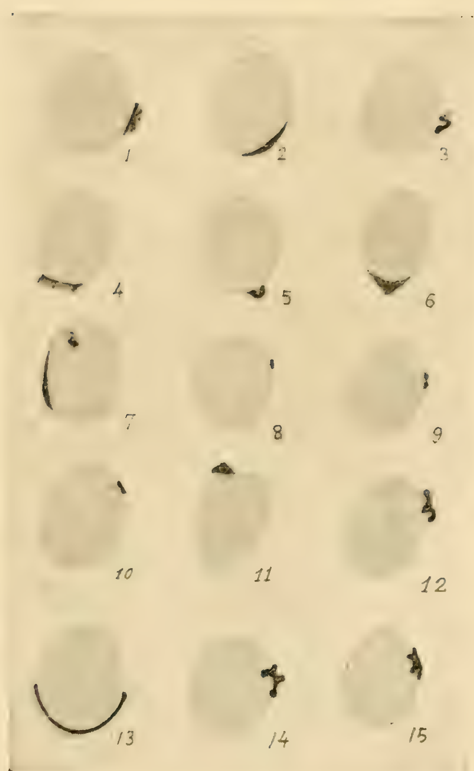
Los diversos aparatos que hemos señalado no están distribuídos con regularidad, por regiones, sino que en cualquiera hilera de los múltiples estratos que forman los granos, pueden hallarse variedades de tipos sencillos ó complicados, regulares ó irregulares. Todas las variedades descriptas pueden observarse en cualquiera de los mamíferos á que hemos aludido (perro, gato y conejo), ignorando si acontece otro tanto en los vertebrados inferiores.

No podemos terminar este trabajo sin hacer público nuestro mayor reconocimiento al ilustre sabio el Dr. Ramón y Cajal, por las inmerecidas atenciones que para con nosotros siempre tuvo; nos enseñó á manejar su valioso proceder del *urano;* nos prestó soberbios preparados, de los cuales hemos copiado algunas figuras; nos orientó en la literatura especial de nuestro tema, y, finalmente, nos dió sabios consejos, que nos han servido de mucho en el curso de nuestros humildes trabajos. Sería ingratitud no consignar de igual modo nuestro reconocimiento al sabio histólogo el Dr. Achúcarro, con cuyo valioso concurso siempre hemos contado para interpretar nuestras preparaciones.

(Las observaciones han sido hechas con el objetivo 1'2 de Leitz y el ocular 4).



M. Marcelo Sánchez: **Contribución al estudio del aparato endocelular de Golgi de los granos de la corteza del cerebelo.**



Figuras 1 á 15.

Á propósito de los caballos pensantes de Elberfeld

POR

GUSTAVO PITTALUGA

El problema genético de las facultades asociativas y de ideación bien manifiestas, si no se quiere poner en duda la realidad de los hechos, en los caballos educados por Krall, ha sido recientemente examinado por Lugaro y por otros psicólogos, y es efectivamente el que más preocupa en el estudio de estos fenómenos.

En efecto; la existencia de manifestaciones de una ideación, y por tanto, de zonas de asociación y de centros pneumónicos superiores en los mamíferos, no puede ser negado como hecho objetivo por nadie, dentro de ciertos límites, que la interpretación subjetiva hace, naturalmente, más ó menos extensas.

Sin embargo, en lo que atañe á los caballos de Elberfeld, aparecen como particularmente desarrolladas, ó por lo menos más fáciles de poner de relieve con la educación, la facultad de resolver cuestiones aritméticas y de aplicar el pensamiento, ó si se quiere con palabras más modestas, las facultades propias de las zonas de asociación y de los centros superiores á la resolución de problemas matemáticos, algunos de ellos bastante complejos, por ejemplo, la extracción de raíces cuadradas, que los caballos de Krall ejecutaban, por medio de una expresión tictológica, con relativa facilidad.

Nos hallamos, pues, frente á una cuestión psico-genética muy importante, á saber: en qué modo, por qué procedimiento ha podido adquirir en estos caballos (probablemente en toda la especie) una capacidad latente de tanto relieve, una facultad de los centros asociativos superiores, alejada de toda utilidad práctica en el desarrollo de la especie.

En efecto; ninguno de los caracteres somáticos y fisiológicos de la especie equina, y ninguna de las aplicaciones, ya espontáneas, ya propias del estado de domesticidad de las facultades psíquicas (cualquiera que sea su alcance) del caballo, aparecen ligadas á un ritmo numérico y mucho menos á la necesidad de resolver problemas aritméticos.

Un criterio puramente darwinista de selección natural, como hace observar Lugaro, no puede adoptarse en este caso; no podemos explicarnos con otras palabras, por medio del criterio darwinista, en qué modo han podido afinarse y afianzarse, hasta el límite que se pone de relieve

en los caballos de Krall, un carácter, ya sea específico, ya propio de algunos individuos de la especie, totalmente alejado de las direcciones normales de la utilización de las facultades psíquicas del caballo, y que para nada le ha servido, al parecer, en el desenvolvimiento histórico de la especie.

El criterio de los neolamarkianos no es tampoco aplicable al caso. Conviene recordar que ya Mach, en el libro sobre «Análisis de las sensaciones» (capítulo 13, sensaciones del sonido, párrafo 22), había hecho una observación análoga á propósito de la evolución de la música y de las aptitudes musicales en la especie humana.

Mach escribe exactamente: «Para los que estudian los hechos desde el punto de vista de la evolución, la música moderna, en su alto desarrollo, como la facultad musical natural, espontánea y que se manifiesta de improviso, resulta á las primeras un fenómeno extraño y misterioso. ¿Qué tiene que ver este desarrollo de los órganos auditivos con la conservación de la especie? ¿No sobrepasa todo esto á los límites de lo necesario y aun solamente de lo útil? ¿Qué importa la fina distinción de la altura de los sonidos? ¿A qué sirve el sentido del intervalo musical?, etc.».

Y Mach resuelve esta cuestión en los capítulos en que somete á examen crítico la teoría de Helmoltz, con un concepto muy parecido al de la multiplicación de los efectos útiles indirectos, que Lugaro ha elevado á la categoría de principio biogenético.

No queremos insistir en esta crítica, porque ha sido hecha recientemente por Lugaro.

Este autor propone, á nuestro entender, con acierto el estudio de un nuevo factor biogenético (y en este caso psico-genético), que él llama ley de los efectos útiles indirectos ó ley de las adaptaciones indirectas, y que consiste esencialmente (prescindiendo de las modificaciones de caracteres somáticos y limitándonos al campo de la psico-genesis) en la formación de aptitudes colaterales que se desarrollan en coincidencia con el desenvolverse y afirmarse de aptitudes útiles, esto es, de verdaderas adaptaciones, sin que aquéllas primeras tengan ocasión alguna de manifestarse hasta que un estímulo extrínseco las ponga casualmente de relieve.

Claro es que el desarrollo de tales aptitudes colaterales ó efectos útiles indirectos, en el sentido amplio biogenético de Lugaro, están ligadas con formaciones estructurales ó modificaciones bioquímicas (en el caso de los fenómenos psicológicos seguramente trátase de relaciones interneurósicas), que nacen, por decirlo así, fatalmente, por estar ligados con el desarrollo teleológico de los fenómenos estructurales ó bioquímicos, que sirven de soporte á las adaptaciones funcionales, útiles al perfeccionamiento de la especie.

Imágenes sensoriales capaces de dar lugar secundariamente á la formación de nociones superiores en centros de asociación, pueden, en nuestro entender, surgir también casualmente, y cuando se trata de impresiones repetidas en modo persistente durante toda la vida de los individuos y el desarrollo de la especie, esta probabilidad aumenta considerablemente.

Nosotros creemos que puede referirse á un mecanismo psico-genético de esta índole la acentuación de facultades aritméticas en el caballo. No podemos negar que esta hipótesis que vamos á exponer á continuación perdería todo su valor si se demostrara que en los experimentos de Krall hay algún elemento engañoso, algún motivo de duda acerca de la realidad, de la capacidad psíquica de los caballos.

Por ahora, á pesar de las críticas de Dexler y de Stumpf, no parecen haberse presentado motivos suficientes para desechar del todo las observaciones de Krall y de von Osten.

Permítasenos de momento, como hace Lugaro, aceptar como buenas algunas de las observaciones de estos dos experimentadores.

En tal caso, debemos hallar un fundamento psico-físico sobre el cual haya podido desenvolverse tácitamente, en modo oculto, en la serie filogénica, la capacidad pneumónica y asociativa que puede revelarse en los caballos (ó en algunos caballos) como aptitud para la resolución de problemas numéricos.

El número, en su concepción abstracta, está íntimamente ligado, y en nuestro entender psico-genéticamente, ligado con la imagen sensorial de ritmo.

Las especies animales en general, y hablamos más estrictamente de los mamíferos, no reciben de los fenómenos exteriores sensaciones acústicas, fácilmente transformables en percepciones rítmicas; con otras palabras, la naturaleza ofrece muy rara y difícilmente fenómenos caracterizados por un ritmo persistente, con intervalos sensiblemente iguales, de modo que puedan convertirse en impresiones acústicas, largamente repetidas, percibidas con iguales caracteres por los individuos de una misma y aun por toda la especie en la serie filogénica.

Y sin embargo, ésta parece ser una condición *sine qua non* para que estas impresiones de sonidos rítmicos se transformen á través de las zonas de proyección y secundariamente de centros asociativos en nociones de número.

Ahora bien; en el caballo, y quizás en los ungulados en general, existe un motivo ligado con la propia organización anatómica de la especie ó del grupo que da lugar á sensaciones acústicas, rítmicas, percibidas en modo persistente y obligado por todos los individuos de la especie y en

toda la serie filogénica : me refiero al golpe que imprime el pie del caballo ó del ungulado en el terreno.

Ciertamente el ritmo del andar, aun prescindiendo de las sensaciones auditivas, imprime de suyo en los centros medulares y probablemente por las vías asociativas en los centros cerebrales, impresiones que, sin embargo, se refieren casi exclusivamente al grupo de las sensaciones cenestésicas y, en cambio, no se transforman en percepciones de hechos objetivos extrínsecos; por lo menos, los elementos extrínsecos de las sensaciones cenestésicas del andar son muy pálidas si se suprime el elemento acústico, es decir, la sensación auditiva del golpe rítmico, esto es, de un sonido percibido como fenómeno objetivo fuera del propio cuerpo y, sin embargo, repetido en toda la serie filogénica de todos los individuos de la especie, aproximadamente con el mismo tiembre, el mismo tono, el mismo intervalo.

DISCUSIÓN

El Sr. **Sánchez** (Domingo) estima de gran interés los estudios sobre Psicología comparada, aplaudiendo las iniciativas del Sr. Pittaluga, y se permite hacer algunas observaciones sobre varias de las cuestiones tratadas por él.

Manifestó que, á su juicio, suele haber alguna inexactitud en la interpretación de los hechos cuando se atribuye á los caballos capacidad mental suficiente para resolver ciertos problemas aritméticos, tales como la extracción de raíces, de cualquier grado que sean, de los números. Cree que tales actos en su categoría de respuesta por medio de fenómenos cinéticos á los estímulos del educador, ya sean esos estímulos ópticos, acústicos, táctiles ó de otra clase cualquiera, son actos automáticos y no productos de verdadera ideación, aparte de otras razones, porque él cree que el caballo no tiene conciencia de la relación que existe entre las expresiones numéricas y sus raíces, y por tanto le considera, desde luego, incapacitado para hallar valores dependientes únicamente de esas relaciones.

Y en cuanto á la hipótesis propuesta por el Sr. Pittaluga para explicar el probable origen de la aptitud calculadora de los caballos, sería, á su modo de ver, igualmente aplicable á todos los animales de progresión ambulatoria, sean ungulados ó no, que oyen sus pasos siempre ejecutados según ritmos análogos, aunque variables con diversas circunstancias. Además, no parece haberse hallado, hasta ahora al menos, más desarrollada la capacidad calculadora en algunos paquidermos que son ungulados que en los proboscidios, en las fieras y en otros animales no ungulados.

El Sr. **Pittaluga** contestó que algunas de las objeciones hechas por el Sr. Sánchez lo han sido ya en otras ocasiones, y que aunque reconocía la fragilidad de la teoría propuesta por él para explicar los hechos observados, creía que no debe desecharse sin previa comprobación, al menos para los mamíferos ungulados.



Otra modificación del método de la plata para la rápida impregnación del tejido conectivo



POR

J. FRANCISCO TELLO

Es sabido que Snessarew (1) ha recomendado el año 1910, para la impregnación del tejido conectivo, una modificación del método de Bielschowsky, consistente solamente en el empleo de este método en cortes por la congelación de piezas fijadas en formol dos ó más horas después de haber sometido los cortes, durante varios días, á la acción de una disolución de sulfato ferro-amónico, pero en ambos casos la impregnación seguía los trámites ordinarios del método.

Hace más de un año sometimos cortes de piezas frescas, obtenidos con el microtomo de congelación, á la acción de la mezcla formol-urano, utilizada para el teñido del aparato reticular de Golgi unos minutos y puestos después de lavado rápido en plata amoniacal en formol al 20 por 100, conseguimos una coloración completísima del tejido conectivo extraordinariamente selectiva, puesto que no teñía nada más. Después de varios ensayos para determinar bien las condiciones del procedimiento, circunstancias que no son del caso nos obligaron á suspender estos trabajos, que hemos reanudado hace poco tiempo, y á despecho de seguir estudiando estas condiciones, para determinar con verdadera precisión el papel de cada uno de los factores que intervienen, como se trata de un proceder sencillísimo que permite obtener bellas impregnaciones del tejido conectivo en pocos minutos, nos parece útil su publicación en esta nota previa.

Desde luego hemos comprobado que el tejido conectivo se impregna bien si los cortes por congelación de órganos frescos son puestos directamente en plata amoniacal cinco á quince minutos y previo lavado rápido en formol al 20 por 100; pero la imagen que se obtiene difiere algo de la que es producida sometiendo los cortes á la acción de los fijadores antes de ser impregnados, quedándonos la duda de si se trata de una impregnación defectuosa ó de una difusión de la materia que atrae la plata,

(1) *Snessarew:* Ueber die Modiefizierung der Bielschowsky Silbermethode zwecks Darstellung von Bindegewebs fibrillennetzen. Zur Frage des Stroma verschiedener Organe. *Anat. Anzeiger*, tomo XXXVI, 1910.

que sólo por la acción de los fijadores se concentra en hilos de bordes bien definidos, como se ve en las imágenes histológicas corrientes. Por esto aconsejamos la fijación con el formol y procedemos del siguiente modo:

1.° *Cortes con el microtomo de congelación de órganos recientemente extraídos del cadáver.* — Los cortes deben ser lo más finos que consienta la naturaleza de los órganos que se cortan, pero en general se pueden obtener de una finura mucho mayor que la que permite esperar la blandura del órgano, habiendo obtenido nosotros cortes de 15 micras corrientemente y hasta de 10 en casos favorables del hígado, riñón, corazón, lengua, etc. Los órganos se cortan tanto mejor cuanto el cadáver es más fresco, y en igualdad de tiempo resisten más los órganos conservados en el mismo cadáver que los que han estado fuera, como no hayan permanecido á baja temperatura.

2.° *Los cortes se introducen de diez á quince minutos en formol al 20 por 100.* — La acción del formol es favorable hasta un cierto punto, después del cual es cada vez más perjudicial y á las veinticuatro horas ya son malísimas las impregnaciones que se obtienen. Probablemente con una concentración menor se pueda prolongar la acción del formol mucho más tiempo sin daño para la impregnación posterior.

3.° *Inmersión sin lavado previo en una disolución de nitrato de plata al 1 $^1/_2$ por 100 durante diez á quince minutos.* — En este baño pueden permanecer los cortes muchas horas sin detrimento para el teñido del conectivo, pero si se prolonga demasiado su acción aparecen gradualmente más teñidos los demás elementos, en tanto que las fibritas colágenas palidecen. De todos modos pueden estar veinticuatro horas perfectamente y esto nos ha permitido conservar cortes de un día para otro.

4.° *Lavado rápido en dos pocillos con agua destilada, ó mejor, en uno sólo con una gota de amoníaco.*

5.° *Se pasan á un pocillo con 5 cent. cúb. de agua destilada y 15 gotas de plata amoniacal, cinco á diez minutos.* — La plata amoniacal la hacemos como para el método de Bielschowsky: precipitamos un volumen determinado de una disolución concentrada de nitrato de plata (10 á 20 por 100) con gotas de lejía de sosa al 40 por 100, hasta que no precipite más; dejamos sedimentar y lavamos repetidas veces con agua destilada; vertemos cuidadosamente el agua del último lavado y añadimos gotas de amoníaco hasta completa redisolución, procurando no sobrepasar ésta, y finalmente añadimos agua destilada hasta completar el volumen primitivo. Si la permanencia en este baño es escasa, aparece la reacción fuertemente granulosa, y si se prolonga demasiado obscurece el baño y aparecen precipitados.

6.° *Lavado rápido en agua destilada.*

7.° *Introducción en formol al 20 por 100 como reductor* para provocar el ennegrecimiento de la plata.

Los resultados obtenidos con este modo de proceder son excelentes; las fibras colágenas aparecen impregnadas en un color que varía del rojo-pardo intenso al negro, y las células, núcleos y demás elementos del tejido quedan sin impregnar, pero susceptibles de una coloración complementaria con los colores de anilina y el carmín. La selección sobre las fibras colágenas es tan decisiva que en órganos en que, como en el riñón, el conectivo se modela en membranas que envuelven los tubos y los glomérulos ó el hígado, en que se aglomera en torno de lobulillos, se pueden impregnar cortes muy gruesos que, vistos al microscopio con objetivos débiles, parecen vaciados de la arquitectura del órgano ó preparaciones obtenidas por corrosión de todo lo que no sea colágeno.

Hemos estudiado con él hasta ahora diferentes órganos (hígado, riñón, bazo, corazón, hipófisis, ganglios, mama, aorta, cerebro, etc.) normales y con diversos procesos patológicos (tumores, etc.) del hombre y conejo y de los resultados obtenidos pensamos ocuparnos más adelante. También hemos aplicado este modo de proceder á piezas que llevaban algún tiempo en formol, obteniendo resultados malos; pero si los cortes recogidos en formol al 20 por 100 son introducidos en una disolución concentrada de tanino antes de llevarlos á la plata, dejando lo mismo los demás tiempos, se consiguen buenas impregnaciones del conectivo en piezas que llevaban mucho tiempo en formol, aunque no llegan á las obtenidas con los órganos frescos ni á las que se consiguen con el proceder de Achúcarro. Parece como si el tanino les devolviera á las fibras colágenas su apetencia por la plata, que habían perdido por la prolongada acción del formol. También hemos obtenido en epiteliomas conservados en formol, intercalando el tanino en frío, según acabamos de decir, una buena impregnación de las fibritas intracelulares del cuerpo mucoso de Malpigio.

Territorios arteriales del riñón

POR

MANUEL SERÉS

Todos los autores que han estudiado la circulación arterial del riñón han insistido solamente en el carácter terminal de las arterias renales, á fin de desechar la concepción antigua de la bóveda arterial supra-piramidal. Fundados en los mismos trabajos de investigación, llevados á cabo primeramente por Hirt y después por Max Brödel, Gerard, Berard y Destot, han venido admitiendo todos los autores clásicos dos territorios renales: uno anterior, que ocupa casi los dos tercios anteriores, y otro posterior, que ocupa el tercio ó cuarto posterior.

Véase lo que dice Testut en su última edición de Anatomía: «Existen, pués, dos territorios principales: uno anterior y el otro posterior; y haremos notar, respecto á este particular, que estos dos territorios renales son muy desiguales en extensión, siendo la rama posterior de la renal más pequeña que el conjunto de las ramas anteriores: Max Brödel afirma que el territorio anterior representa aproximadamente los tres cuartos del parénquima renal, mientras que el territorio posterior sólo representaría el cuarto».

Lequen, Papin y Maingot, en su reciente atlas de radiografías, admiten también los dos territorios renales completamente separados.

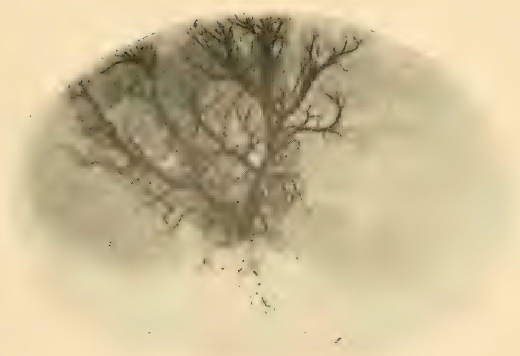
Y véase lo que dicen Berard y Destot en su comunicación á la Sociedad de Biología y Academia de Medicina de París. En la primera de sus conclusiones acerca de la circulación arterial del riñón, dicen:

«En el riñón, la circulación arterial se hace, según amplios territorios cerrados y superpuestos, en sentido antero-posterior».

Conforme á esta división arterial y teniendo en cuenta la terminalidad de las arterias y la no anastomosis, están perfectamente separados ambos territorios renales por una zona isquémica, en donde no se encuentran grandes ramas arteriales, que se conoce con el nombre de *zona isquémica de Hirt.* Esta zona está situada sobre la cara posterior del riñón, á 1 centímetro por detrás del borde convexo.

Mis investigaciones acerca de la circulación arterial del riñón han venido á demostrar que esta división en dos territorios renales tiene lugar solamente en la parte media del riñón. Cada uno de los territorios, á medida que se acerca á los polos, invade poco á poco los bordes y cara opuesta





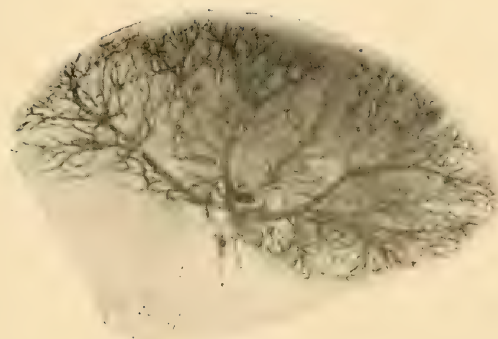


Lámina 1.

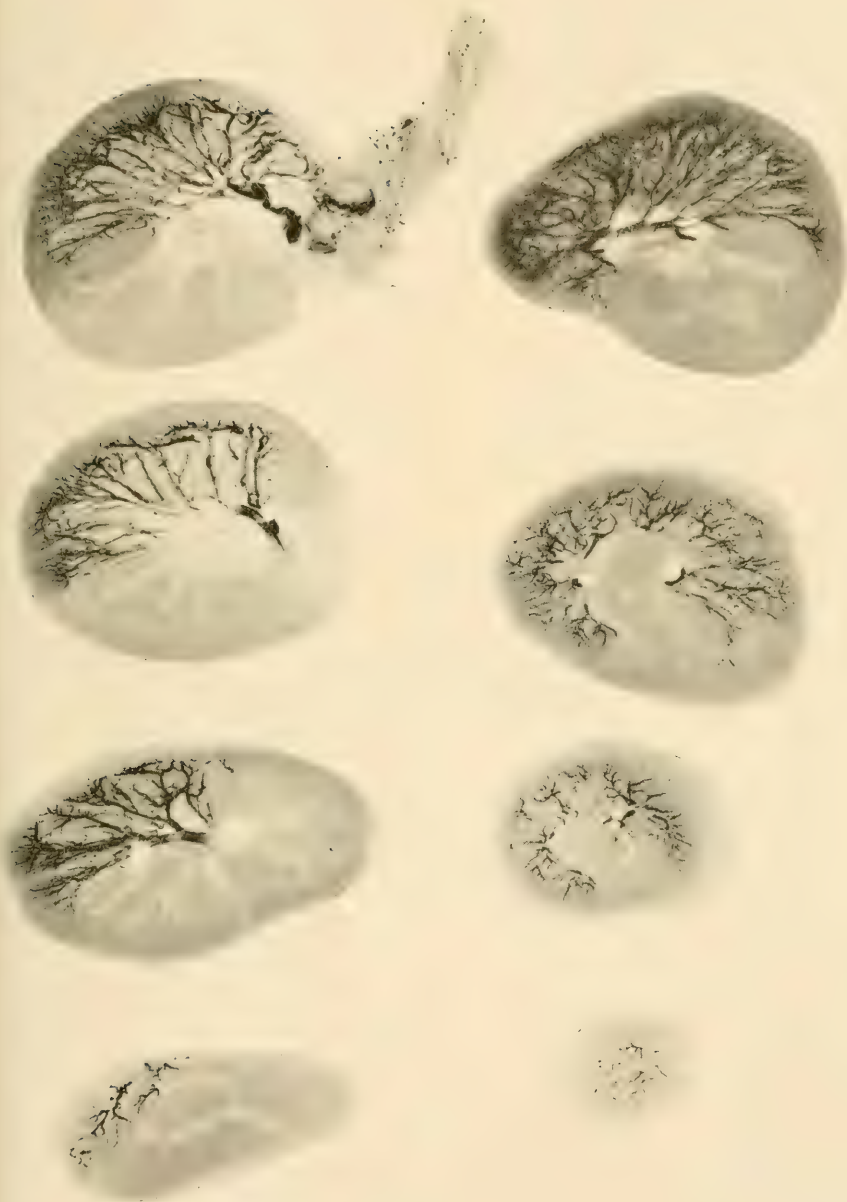


Lámina II.



Lámina III.



Lámina IV.

del riñón formando un arco cada vez más cerrado, y al llegar al polo del riñón forma un círculo completo. La línea isquémica de Hirt se encuentra, por lo tanto, solamente en la parte media del riñón, ya que ambos territorios van entrecruzándose hacia los polos, haciendo desaparecer dicha zona isquémica.

El error de admitir dos territorios renales, se explica porque los autores antes citados han examinado riñones inyectados por completo.

He seguido mis investigaciones practicando en el riñón inyecciones opacas, dando cortes horizontales y radiografiándolos luego.

Véase la explicación de las láminas siguientes, escogidas de la colección de radiografías, que más adelante me servirán para mi trabajo completo sobre la circulación arterial del riñón:

LÁMINA I. *Radiografía de una rama de la arteria renal, inyectada con bermellón y esencia de trementina.*—La parte no inyectada de un polo corresponde al territorio de una arteria polar. Véase de paso que están perfectamente separados los territorios de la arteria renal y de la arteria polar.

LÁMINA II. *Representa diferentes cortes superpuestos del riñón de la lámina anterior.*—Los cortes están dados de arriba abajo, y numerados en el mismo sentido.

El borde convexo en cada corte está dirigido hacia fuera, y los bordes cóncavos, se miran los de un lado con los de otro.

Véase en el corte cuarto, que corresponde á la parte media del riñón, la división exacta en dos territorios renales: uno anterior, mayor, que es el que está inyectado, y otro posterior, no inyectado. En el corte quinto, dado á un nivel más inferior, se ve que el territorio inyectado invade los bordes del riñón. En el corte sexto, el territorio renal anterior ha invadido la parte de la cara posterior inmediata á los bordes, simulando en su conjunto una C. En el corte séptimo, la invasión de la cara posterior es mayor, y el círculo está casi cerrado. En el corte octavo, dado á nivel del polo inferior, el círculo inyectado está completamente cerrado, lo que prueba que la arteria renal anterior se distribuye á este nivel por ambas caras y bordes del riñón.

LÁMINA III. *Radiografía completa de la arteria renal.*—En ella se ve que las ramas arteriales son muy numerosas; unas se ven más cerca y otras más lejos, correspondiendo á ambas caras del riñón. Se ven también algunas arteriolas del ureter inyectadas, que proceden de la arteria renal.

LÁMINA IV. *Radiografía de cortes horizontales del riñón de la lámina anterior.*—Véase en los cortes tercero, cuarto y quinto, es decir, en los cortes de la parte media del riñón, perfectamente marcada la *zona isqué-*

mica. Situado en la cara posterior, cerca del borde convexo, y en los cortes restantes que se aproximan á ambos polos del riñón, la zona isquémica ha desaparecido, lo que prueba que cada uno de los territorios renales ha invadido la línea isquémica para inundar la cara opuesta.

Como resumen de mis investigaciones formularé las siguientes conclusiones:

1.ª Las arterias del riñón son terminales.

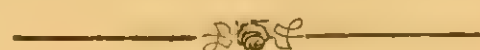
2.ª Las dos ramas de la arteria renal forman un territorio anterior y otro posterior, separados por una zona de menos vascularización, situada un centímetro por detrás del borde convexo del riñón. El territorio anterior comprende los dos tercios ó tres cuartas partes, y el posterior el resto.

3.ª Esta división en dos territorios renales y la separación de los mismos por medio de la zona isquémica tiene lugar solamente en la parte media del riñón.

4.ª En los polos no tiene lugar esta limitación de cada uno de los territorios á su cara correspondiente.

5.ª A medida que se acercan á los polos cada uno de los territorios renales, invaden poco á poco los bordes y cara opuesta, formando un arco cada vez más cerrado, hasta que al llegar al polo del riñón, el territorio renal rodea toda la circunferencia del polo.

Nota. Las radiografías están obtenidas con la pericia que le caracteriza, por el Dr. Comas, radiólogo de la Facultad de Medicina de Barcelona.



Modificación de la reacción de Debré y Paraf para la investigación del antígeno tuberculoso en la orina

POR

SERÉS Y BELLIDO



En las muchas reacciones que hemos practicado, empleamos primeramente la técnica de Debré y Paraf, que resumidamente consiste en lo siguiente:

Primera parte. — Se emplean 22 tubos, divididos en dos series de 11; en cada uno de ellos se harán las mismas manipulaciones: en una, con orina sin haber sufrido ninguna modificación; en la otra, con orina después de calentada á 60°. Los 11 tubos de cada serie se dividirán en tres

grupos, A, B y C, compuestos de cinco tubos los dos primeros y de uno el C.

Los tubos del grupo A contienen orina, anticuerpo tuberculoso y alexina; los del grupo B, orina (antígeno) y alexina; los del grupo C, antígeno y anticuerpo. El anticuerpo se pone en cantidad de 0'3 centímetros cúbicos. La alexina á dosis conveniente. La orina, en cantidades diferentes en cada uno de los cinco tubos de los grupos A y B; los cinco tubos de cada uno de estos grupos contienen, del primero hasta el quinto respectivamente, 0'2, 0'4, 0'6, 0'8 y 0'10 cent. cúb.

El tubo del grupo C contiene 0'10; además, en cada uno de los tubos se pondrá la cantidad de agua fisiológica necesaria para formar 3 centímetros cúbicos.

Arreglados los tubos en esta forma se ponen á la estufa, por espacio de dos horas, á temperatura de 37°.

Segunda parte. — La segunda parte consiste en añadir á cada tubo la hemolisina y dilución de glóbulos rojos, poniéndolo luego después á la estufa durante veinte ó veinticinco minutos.

Inconvenientes de esta técnica.—Aparte la gran cantidad de suero antituberculoso que para cada reacción se necesitaba, tenía en primer lugar el inconveniente de que á un tiempo no se podía practicar más que una reacción.

Pero el principal inconveniente de la técnica de Debré y Paraf está en los resultados desiguales que se obtienen en los tubos del grupo A, que son precisamente los que indican el resultado de la reacción. Interviniendo cantidades diferentes de antígeno (en caso de contenerlo la orina) en cada tubo, los resultados serán diferentes; en efecto, en los tubos que contienen poco antígeno hay una hemolisis casi completa, en los de mayor cantidad hay retención y en los de cantidades intermedias los resultados son intermedios también entre la retención y la hemolisis completa. Como que en esta reacción los resultados no son tan patentes como en la reacción de Wassermann, sucede que en un momento dado no se puede saber si hay retención ó hemolisis.

Modificación introducida por nosotros.—Reducimos en primer lugar la dosis de cada elemento á la mitad. Comprendimos luego que la cantidad de orina debía ser la misma en todos los tubos. Para esto hicimos diferentes pruebas, resultando que la cantidad más conveniente era de 0'25 centímetros cúbicos.

Con esta modificación reducimos los cinco tubos de los grupos A y B á uno solo, ya que los de cada grupo en lo único que diferían era en la cantidad de orina.

Introducimos luego un comprobante más, formado por otro tubo que

contenía los mismos elementos que los del tubo A, pero que la cantidad de complemento era doble de aquél.

En resumen, para cada reacción hay cuatro tubos, que se colocan escalonados de arriba abajo y se les llama A, A′, B y C. Cada uno de los tubos contenía además la cantidad de agua fisiológica necesaria para formar 1'5 cent. cúb.

El siguiente cuadro resumen indica muy bien las cantidades de cada elemento que contiene cada tubo:

	ORINA	SUERO	COMPLEMENTO	AGUA FISIOLÓGICA
A	0'25	0'15	0'25	0'85
A′.	0'25	0'15	0'50	0'60
B	0'25		0'25	1
C	0'25	0'15		1'10

Los restantes tiempos de la reacción se verifican con arreglo á la técnica ordinaria.

Ventajas de la modificación. — Con esta modificacion se obtienen las siguientes ventajas:

1.ª Es la técnica más sencilla y no se presta á equivocaciones.

2.ª Pueden verificarse muchas reacciones á un tiempo.

3.ª Se gasta menos suero antituberculoso.

4.ª Los resultados son muy exactos, ya que en todos interviene la misma cantidad de antígeno. Ante una reacción ejecutada con nuestra técnica puede saberse con exactitud si hay retención ó hemolisis en los tubos A y A′, es decir, si es positiva ó negativa.

Pruebas clínicas y experimentales.—Con esta técnica hemos practicado 200 reacciones en diferentes afecciones tuberculosas y no tuberculosas. Los resultados han sido claros y exactos; 120 van detallados en el trabajo presentado á la Real Academia de Medicina de Barcelona, al igual que las diferentes pruebas experimentales que han venido á comprobar las observaciones clínicas.

NOTA. Este trabajo fué hecho á principios del año 1913; pero por tenerlo que presentar á un concurso de una Real Academia, nos vimos imposibilitados de darlo á la publicidad.

Sobre la existencia de células de Paneth en el apéndice vermiforme

POR

P. DEL RÍO HORTEGA

Desde que en 1888 describió Paneth, con el nombre de Körnchenzellen (células con granos), los elementos especiales yacentes en el fondo de las glándulas de Lieberkühn y R. Heidenhain, Nicolas y Schaffer confirmaron el descubrimiento, ha sido siempre de actualidad el estudio de las células de Paneth, de las que aún no poseemos un conocimiento exacto.

Si revisamos la abundante literatura que existe sobre este asunto, salta á la vista, ante todo, el notable desacuerdo existente entre los investigadores. Así, vemos que Paneth, Möller, Schaffer, Nicolas, Lubarsch y Martins, Trautmann y Zimmermann consideran á las Körnchenzellen como exclusivas de las criptas glandulares del intestino delgado, y niegan su existencia en el intestino grueso, en tanto que Störr y Bizzozero las encuentran en todo el tractus intestinal, Thorel, Schwalbe y Bloch en el estómago, y este último autor y Kaufmann en las glándulas de Brunner.

Si bien la inmensa mayoría de los autores no menciona ó niega la existencia de células de Paneth en el apéndice y admite en sus glándulas disposición idéntica á las del intestino grueso, Bloch las encontró en un apéndice de hombre adulto. Pero desde 1903, fecha del trabajo de Bloch, nadie ha vuelto á insistir sobre este punto, que estimamos de algún interés.

En el Laboratorio del profesor Prenant, por su consejo, y utilizando el abundante material que, con amabilidad nunca bastante agradecida, nos proporcionara, hemos efectuado numerosas investigaciones sobre las células de Paneth, tratando de aclarar en su triple aspecto citológico, microquímico y fisiológico, los muchos puntos dudosos existentes. De los resultados obtenidos (que en su día publicaremos *in extenso)* entresacamos la presente nota sobre la presencia de tales células con granos en el apéndice vermiforme.

Hemos examinado varios apéndices de hombre adulto (tres de ellos ajusticiados), dos de niño, dos casos de apendicitis y dos de tumor apendicular. Las piezas fueron fijadas en el licor de Bouin, en el de Flemming ó simplemente en formol. Sea cualquiera el fijador empleado, las células de Paneth aparecen perfectamente teñidas con el método tricrómico de

Cajal, el de Heidenhain ó el de Gram. Este último, tal y como se utiliza en Bacteriología, seguido de la doble coloración de Prenant: eosina primeramente y después verde lumière en solución alcohólica concentrada, nos ha proporcionado bellísimas coloraciones, en las que las células exhiben la escasa cromatina de sus núcleos teñida débilmente en violeta, los granos protoplásmicos—parte esencial—en color morado y la parte amorfa del protoplasma, con los dos matices rosado y verde, característico el último de la substancia mucoide, que en concepto de Prenant da á las células de Paneth el valor de células mucosas especiales. Sabido es que Bizzozero las estima como elementos mucosos jóvenes; que Kull y Cloeta, por el contrario, las consideran como células mucosas viejas, y que la gran mayoría de autores (Schaffer, Möller, Fischl, Klein, Nicolas, Ciaccio) las interpretan como células morfológica y funcionalmente especiales.

Pero sobre esto y sobre los caracteres citológicos no hemos de insistir, constriñéndonos por ahora á la cuestión topográfica.

Hagamos, sin embargo, constar la gramofilia de los granitos celulares, que resisten aún más que las mitosis á la decoloración, para añadir que el método de Gram debe ser siempre de elección para el estudio de las Körnchenzellen.

Puede considerarse al apéndice como un folículo cerrado tubuliforme—amígdala del ciego, según Gerard—, tapizado interiormente por una mucosa más ó menos replegada. Este folículo posee los mismos caracteres que los folículos solitarios del intestino y que todos los órganos linfoides; la mucosa que le reviste es idéntica á la de las vellosidades intestinales. Su epitelio de revestimiento ha sido por muchos asimilado al del intestino grueso, y sus invaginaciones y repliegues, considerados más que como glándulas de Lieberkühn, como pseudoglándulas, ya que en ellos faltaba el elemento característico de aquéllas: las células de Paneth.

Podemos dejar sentado desde luego que el epitelio de revestimiento de la cavidad apendicular posee exactamente los mismos caracteres que en el intestino delgado, tanto por la forma y la talla de sus elementos, por sus células caliciformes ó claras y estrechas ú obscuras, y las formas de transición entre unas y otras, como por poseer los tipos celulares estudiados por Nicolas (cellules à grains basales), por Schmidt (Gelbezellen), por Ciaccio, Oppel y Kultschitzky.

En todos los apéndices de hombre adulto examinados existían células de Paneth, en mayor ó menor número. Muy escasas ó nulas al nivel de la punta, y tanto más abundantes cuanto más dilatado el conducto apendicular, son numerosas en el cuerpo del órgano, y aún más hacia la

base. No existen en todas las criptas, sino tan sólo en las profundas invaginaciones, en las que puede verse de una á cuatro y hasta seis células granulosas. Muchos cortes carecen de ellas y en otros, solamente una ó dos criptas las poseen; sin embargo, raro es encontrar una sección con más de tres glándulas provistas de ellas.

Hállanse las células de Paneth siempre situadas en el fondo de las criptas y poseen un tamaño bastante mayor, á veces, que en las glándulas de Lieberkühn del intestino, carácter que se observa, sobre todo, cuando el número de aquéllas es muy débil.

En uno de los casos visto en cortes seriados de 10 micras de espesor aparecía una sola y misma célula en cuatro de aquéllos, seccionada á diversas alturas; sus granos llenaban totalmente el protoplasma y algunos ofrecían tamaño doble al ordinario. Por lo demás, los caracteres morfológicos y microquímicos corresponden enteramente á los ya conocidos.

Podemos sentar, pues, la conclusión de que en el apéndice normal del hombre adulto existen células de Paneth y, por consiguiente, que este órgano posee glándulas de Lieberkühn verdaderas.

En ninguno de los dos apéndices de niño observados hemos visto células de Paneth ni tipo alguno celular que pudiera ser considerado como forma de transición entre ellas y el epitelio ordinario. Vése, sin embargo, alguna que otra célula con granitos fuchinófilos basales, idéntica á las del intestino. Nuestras observaciones coinciden con las de Möller, Marfan, Nicolas, Zimmermann, Paneth, Schaffer, Lubarsch y Martins y Bernard, que niegan la existencia de Panethschezellen en el intestino del niño y con las de Fischl y Schmidt, que tampoco las encontraron en el feto. Bloch es el único autor que menciona su presencia en el intestino de niños en la lactancia, si bien asignándolas caracteres diferentes á los típicos (granos apenas coloreables).

En los apéndices patológicos (apendicitis, tumores), según nuestras observaciones, no existen células de Paneth ni vestigio de ellas.

En la apendicitis (no supurada) obsérvase cierta riqueza celular en las criptas glandulares, las cuales se hallan totalmente despegadas del tejido linfoide y como envueltas por un dilatado espacio linfático.

En ellas no se observa sino el epitelio prismático común, salpicado de escasas células mucosas. Ninguna célula de Paneth.

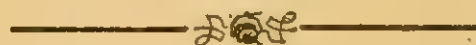
En los tumores (epiteliomas cilíndricos) existía abundante formación de criptas y repliegues, tapizados de células con iguales caracteres que el epitelio del intestino grueso, sin que se destacase con ningún método de coloración la presencia de células con granos: ni de Paneth, ni los elementos con granos basales cuya proliferación ha sido estudiada en un caso de tumor apendicular por Manon.

Conforme á lo expuesto, se ve que existen células de Paneth en toda la porción del tubo digestivo denominada por los embriólogos «asa intestinal», de la que se origina el intestino delgado y parte del intestino grueso (ciego, colon ascendente y transverso). Admitiendo su existencia en la «porción duodenal», ya que lo afirman Oppel, Zimmermann y Metzner, resultan solamente desprovistas de células de Paneth la «dilatación gástrica» y el «intestino terminal», puesto que en aquélla ponemos muy en duda la existencia de células de Paneth, no obstante haber sido señalada por Schwalbe y Bloch y por Thorel en casos patológicos, fundándonos en una observación propia de pared estomacal, en la que existían en las glándulas pépsicas y en las intestinales de Brunner células con granos más parecidos á los de las células pancreáticas por su tamaño y reacciones colorantes que á los de las células de Paneth, con las cuales es fácil la confusión cuando no se las estudia con detenimiento.

Tal profusión de las células de Paneth en el tractus intestinal quita importancia á su presencia en el apéndice, pero es un nuevo dato para probar que éste no es un órgano absolutamente atrófico al que pueda considerarse desprovisto de función; ya que posee glándulas de Lieberkühn típicas, ya que en su mucosa existe una activa renovación del epitelio, como lo prueba la abundante división celular, y ya que en ningún caso se observa la pretendida destrucción de sus glándulas por los leucocitos y su transformación en folículos solitarios, observada por Rüdinger en el apéndice de cinco decapitados.

Debemos mencionar, por último, que en los folículos cerrados del apéndice (principalmente en su centro germinativo) hemos encontrado ciertas células especiales, que sepamos, todavía no descriptas, las cuales faltan en los folículos y en la submucosa del intestino humano, pero existen en la submucosa del intestino del mono (macaco), las cuales son objeto actualmente de nuestro estudio.

(Trabajo del Laboratorio del profesor Prenant en la Facultad de Medicina de París).



Sobre la glioarquitectónica de la corteza cerebral

POR

N. ACHÚCARRO

A la manera como el plan de estratificación de las células nerviosas en la corteza cerebral ha recibido el nombre de citoarquitectónica y la disposición particular estratificada de las fibras de mielina en la misma corteza el de mieloarquitectónica, es justo dar el nombre de *glioarquitectónica* de la corteza al modo como la neuroglia se distribuye en la substancia gris de las circunvoluciones.

Este estudio no se ha hecho de un modo sistemático por falta de métodos adecuados, puesto que el método de Weigert únicamente tiñe cierta categoría de células neuróglicas y el método de Golgi no da imágenes uniformes y tiene una aplicación limitada en la corteza de animales adultos. Por otra parte, según he manifestado en otras publicaciones, los métodos de Held no tienen valor absoluto respecto á este punto, ya que en un asunto de primordial importancia, como es el del carácter sincitial ó individual de las células neuróglicas, mis imágenes microscópicas y las de Cajal se encuentran en contradicción con las descripciones y reproducciones de aquel histólogo.

El método del cloruro de oro con sublimado de Cajal, en primer lugar, y el del tanino y plata amoniacal empleado por mí, que, aunque menos seguro, contribuye á confirmar y completar á veces los resultados del método áurico, permiten atacar el estudio del plan arquitectural de la neuroglia en la corteza cerebral.

Este estudio comprende el plan fundamental de arquitectura de la corteza, sus variaciones regionales y la histología comparada de esta arquitectura neuróglica en distintas especies.

Aparte de su interés biológico, el intentar este estudio es de toda necesidad para trabajar con fruto en la histopatología cortical, pues es sabido que la neuroglia se altera fácilmente y que ciertas formas de neuroglia que se encuentran á determinadas alturas de la corteza cerebral, como, por ejemplo, las células protoplásmicas de estratos medios corticales, pueden transformarse en células fibrosas, las cuales muy frecuentemente llevan en su morfología y estructura indicios ó claros signos de su naturaleza patológica, pero que otras veces son tan semejantes á las células normales de los estratos profundos de la corteza cerebral, que su

carácter patológico únicamente se manifiesta por encontrarse en capas donde no existen células fibrosas habitualmente.

En esta comunicación hemos estudiado únicamente la neuroglia del asta de Ammon en su estratificación y disposición arquitectural.

El asta de Ammon, desde el punto de vista de la citoarquitectónica neuronal, es calificado por Brodmann como *cortex rudimentarius* y como corteza de las llamadas por este autor heterogenéticas, las cuales en todo tiempo de la evolución presentan una estratificación que se separa del plan fundamental de las seis capas de la corteza normal. Este mismo lugar le correspondería, según Brodmann, á la fascia dentata.

La histología neuronal de estas dos formaciones está bien conocida gracias á los trabajos de Golgi, Sala, Lugaro y recientemente Doinikow, pero muy especialmente gracias á la clásica monografía de Cajal, la cual data de 1893, y cuya descripción histológica no ha sido superada posteriormente.

Nuestras preparaciones son de material humano, y entre ellas hemos estudiado con atención varias preparaciones de Cajal, puestas para este objeto generosamente á nuestra disposición; además, hemos estudiado el asta de Ammon del mono, del perro y del gato; el cerebro de un niño de pocos meses ha servido para darnos alguna idea respecto al desarrollo.

En una sección del asta de Ammon en su parte superior podremos estudiar seguidamente y á partir desde el ventrículo toda la estratificación del asta de Ammon y la de la *fascia dentata*, que se hallan á continuación, pero tocándose por sus capas superficiales ó moleculares.

A continuación de la capa epitelial del asta de Ammon limitante con el ventrículo, la cual está formada de células cúbicas que hacia la profundidad del alveus envían fibras que recorren extensiones considerables de la preparación, nos encontramos con la capa de substancia blanca conocida con el nombre de *alveus* y que corresponde á la substancia blanca de una circunvolución ordinaria.

La neuroglia se encuentra formada aquí de células fibrosas de tamaño mediano, con pies de implantación en los vasos, algo mayores que las prolongaciones ordinarias. En esta capa no se encuentran nunca en el adulto células de tipo protoplásmico.

En la capa siguiente, en el *stratum oriens*, las células son también fibrosas en su mayoría, pero se diferencian de las del *alveus* en su tamaño, que es mucho mayor, y en el espesor y sencillez de sus ramificaciones. Ya en la vecindad ó zona de transición con la capa de las pirámides ó stratum lucidum se presentan elementos mixtos, fibrosos en parte, en parte protoplásmicos, como los que Cajal ha descripto en la corteza corriente.

Desde el estrato piramidal hasta la zona molecular fronteriza con la fascia dentata, las células neuróglicas son del tipo protoplásmico y precisamente aquéllas en las que el protoplasma es más abundante y más ramificado.

Aquí la estructura reticulada descripta por Cajal es más manifiesta y precisa que en ningún otro punto de la corteza. Las células francamente estrelladas y más ó menos adaptadas á las pirámides de la capa piramidal en esta zona, cambian de forma en el *stratum radiatum*, en donde abundan los elementos alargados con penachos protoplásmicos, orientados en sus ejes principales paralelamente á las prolongaciones protoplásmicas de las células piramidales. Algunas de estas ramas son realmente espesísimas, y en la parte periférica del estrato, en su vecindad con la capa lacunosa, se ven muchas prolongaciones, en las que se presenta el fenómeno de la fractura dendrítica ó klasmatodendrosis de Cajal.

El *stratum lacunosum* presenta células de protoplasma más exiguo, de prolongaciones más esbeltas, de ramificaciones menos profusas y elementos mixtos que han sufrido en parte la esclerosis fibrosa y hasta algunos francamente fibrosos. En esta zona, en la que los cortes de los grandes fascículos mielínicos que dan el aspecto lacunoso se presentan por el método del oro en claro, se ven células neuróglicas periféricas á estos fascículos y adaptado su cuerpo á la superficie de los mismos.

La zona molecular, finalmente, tiene células fibrosas, pero en su mayor parte de pequeño tamaño, y se funde con la superficial de la capa molecular de la *fascia dentata* en aquellos parajes en que las dos circunvoluciones se hallan adosadas por sus capas moleculares.

Esta fusión de las dos circunvoluciones existe realmente en el adulto, y las células neuróglicas que se encuentran en la frontera, células que son de carácter fibroso, extienden hacia un lado y otro, es decir, hacia las capas moleculares de asta de Ammon y de fascia dentata, sus expansiones.

La zona molecular de la fascia dentata tiene dos clases de elementos neuróglicos en el hombre adulto, unos de carácter netamente protoplásmico, estrellados ó alargados, con arborizaciones enteramente iguales á las protoplásmicas de la corteza ammónica, pero de una sutileza extraordinaria; tanto, que su estructura reticulada casi no es perceptible. Estas células llenan la zona molecular, dando en parte el aspecto reticulado que á un análisis superficial pudiera dar la impresión de la supuesta red sincitial de Held.

Además de esta estructura protoplásmica se ven en el hombre adulto finas hebras neuróglicas poco numerosas, apenas perceptibles, de carácter fibroso y que parecen proceder de la zona granulosa de la fascia den-

tata. Más tarde veremos que estas fibras, aquí insignificantes, y que ya por su orientación recuerdan las fibras de Bergmann del cerebelo, tienen en épocas más tempranas un desarrollo considerable.

La capa de los granos de la fascia dentata tiene células neuróglicas de tipo protoplásmico en su mayoría, pero también algunas fibrosas, las cuales se hallan especialmente en la zona más cercana á la parte envuelta de asta de Ammon, la cual en la disposición de sus células nerviosas suele tener aspecto de trompa, y que llamaremos, para abreviar, la trompa del asta de Ammon. De entre estas células neuróglicas, vecinas á la trompa, parten los finos hilos penetrantes que hemos visto en la capa molecular de la fascia dentata.

Finalmente, y siguiendo nuestra excursión á través del asta de Ammon y fascia dentata, llegamos á la región de la trompa ammónica, región que representa nuevamente el stratum lucidum y el stratum oriens de la corteza ammónica, y cuya estructura neuróglica hay que describir nuevamente, porque aquí es netamente fibrosa en el adulto. Así como en la zona de la capa piramidal vecina al ventrículo las células neuróglicas eran en su mayor parte protoplásmicas, aquí son fibrosas, y lo mismo las células libres en el tejido que las satélites de las nerviosas.

No vamos á enumerar detalladamente aquí las diferencias de esta estratificación neuróglica con la que observamos en los animales y en épocas anteriores de la evolución. Como ejemplo de lo interesante de este estudio señalaremos solamente que en el mono (macaco) examinado por nosotros, la estratificación es muy semejante al hombre por lo que se refiere á células protoplásmicas y fibrosas. La capa de las pirámides, el stratum radiatum y la capa molecular de la fascia dentata, están pobladas en el mono también por células protoplásmicas. En cambio, el perro, el gato y el conejo tienen en estos lugares células genuinamente fibrosas.

Respecto á detalle histogenético de importancia, sólo mencionaremos aquí que las fibras finas perforantes de la capa de los granos de la fascia dentata tienen la mayor importancia en el recién nacido. Así, en un gato de diez días son las estructuras más importantes de esta capa, tienen carácter protoplásmico, y únicamente más tarde se esclerosan, se atrofian, y las células neuróglicas propias de la capa se transforman en la estructura predominante.



Resumen del acta de la Junta ordinaria celebrada el 22 de Enero de 1915.

El Sr. Contador presentó un estado detallado de las cuentas correspondientes al año de 1914, que fueron aprobadas.

Fueron admitidos como Socios los señores siguientes: D. Luis Fortún, D. Manuel Marcelo Sánchez y D. Juan Peset (de Sevilla).

Debiendo renovarse los cargos de Vicepresidente, Contador y uno de los Vocales de la Junta Directiva, se procedió á la designación de los Socios que hayan de desempeñarlos, resultando elegidos: para Vicepresidente, D. Gustavo Pittaluga; para Contador, D. Francisco Tello (reelegido), y para Vocal, D. Luis R. Illera.

Además, como estuviese vacante, por renuncia de D. Gonzalo R. Lafora, el cargo de Secretario de la Sociedad, se procedió á la elección, resultando designado para dicho cargo D. Domingo Sánchez y Sánchez, quedando constituída del modo siguiente la

Junta Directiva de la Sociedad Española de Biología para 1915.

Presidente...............	Excmo. Sr. D. Santiago Ramón y Cajal.
Vicepresidente...........	D. Gustavo Pittaluga.
Secretario...............	D. Domingo Sánchez.
Contador................	D. Francisco Tello.
Vocal...................	D. José Casares.
Vocal...................	D. Luis R. Illera.

Lista de Socios de la Española de Biología en 22 de Enero de 1915.

Achúcarro (D. Nicolás).
Aguilar (D. Florestán).
Alonso Celada (D. José).
Arredondo (D. Manuel).
Azúa (D. Germán).
Azúa (D. Juan).
Bolívar (D. Ignacio).
Bourkaib (D. José).
Calandre (D. Luis).
Cardenal (D. León).
Casares (D. José).
Celada (D. Vicente).
Colomo (D. Victoriano).
Collantes Cortezo.
De Buen (D. Odón).
Fortún (D. Luis).
García (D. Dalmacio).
García del Diestro (D. José).
García Hurtado (D. Saturnino).
Gayarre (D. Miguel).
Gómez (D. José).
González Tomás (D. Julio).
Goyanes (D. José).
Hernando (D. Teófilo).
Hinojar (D. Adolfo).
Huertas (D. Francisco).
Lamas (D. Luis).
Lecha-Marzo (D. Antonio).
Leoz (D. Galo).
López (D. Baudilio).
López Elizagaray (D. Jacobo).
Llorente (D. Vicente).
M. Díaz del Villar (D. Juan).
Madinaveitia (D. Juan).
Maestre (D. Tomás).
Marañón (D. Gregorio).
Márquez (D. Manuel).
Medina (D. Alfonso).
Megías (D. Jerónimo).
Mendoza (D. Antonio).
Mouriz (D. José).
Olivares (D. Laureano).
Ortiz de la Torre (D. José).
Parache (D. Félix).
Pascual y Ríos (D. Salvador).
Pittaluga (D. Gustavo).
Prieto (D. Pantaleón).
Ramón y Cajal (D. Santiago).
Ramón Fañanás (D. Jorge).
Río Hortega (D. Pío).
Rodríguez Carracido (D. José).
Rodríguez Illera (D. Luis).
Rodríguez Lafora (D. Gonzalo).
R. Arcaute (D. Lorenzo).
Rubiano (D. Santos).
Ruíz Falcó (D. Antonio).
Sacristán (D. José).
Sacristán (D. Juan).
Sánchez (D. Domingo).
Sánchez (D. Marcelo).
Sánchez Covisa (D. Isidro).
Sánchez Covisa (D. José).
Simarro Lacabra (D. Luis).
Simonena (D. Antonio).
Tello (D. Francisco).
Terroba (D. Antonio).
Toledo (D. Julio).
Valderrama (D. José).
Verdes Montenegro (D. José).

INGRESS				GASTOS Y EXISTENCIAS			
FECHAS	CONCEPTOS	PESETAS	CTS.	FECHAS	CONCEPTOS	PESETAS	CTS.
	Existencia anterior	1.405	20	Marzo	Pagado al carpintero	57	50
»	93 recibos de 1913	186	»	»	Idem al fotograbador	5	14
Enero	74 ídem de Enero de 1914	148	»	Abril	58 recibos inutilizados	116	»
Idem	Una suscripción	11	»	Mayo	Pagado al Sr. Cabello	56	75
Febrero	71 recibos de Febrero	142	»	Junio	Idem al Sr. Moya	835	»
»	72 ídem de Marzo	144	»	»	Idem al Colegio de Médicos	100	»
Idem	12 ídem de 4 altas	24	»	»	Cobradores, doce meses	140	»
Abril	76 ídem de Abril	152	»	»	Correo y papel	35	»
Mayo	75 ídem de Mayo	150	»	»	100 recibos sin cobrar	200	»
Junio	74 ídem de Junio	148	»				
»	Una suscripción	9	»		*Saldo á favor de la Sociedad*	1.538	31
»	Por 3 cuadernos	4	50				
Julio	75 recibos de Julio	150	»				
Octubre	70 ídem de Octubre	140	»				
Noviembre	70 ídem de Noviembre	140	»				
Diciembre	65 ídem de Diciembre	130	»				
	TOTAL	3.083	70		TOTAL	3.083	70

Año IV. Enero-Febrero, 1914. Núm. 26.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

MADRID
IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Orellana, 10, bajo, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

La próxima sesión tendrá lugar en el Colegio de Médicos el viernes 17 de Abril, á las *seis y media* de la tarde.

Año IV. Marzo-Abril, 1914. Núm. 27.

BOLETÍN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOLOGÍA



SUMARIO

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Orellana, 10, bajo, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

Año IV. Mayo, 1914. Núm. 28.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

Sesión del 22 de Mayo.

MADRID
IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Orellana, 10, bajo, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

Año IV. Octubre, 1914.—Enero, 1915. Núm. 29.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

Sesión del 30 de Octubre

Sesión del 22 de Enero

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1915

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Domingo Sánchez, Laboratorio de Investigaciones biológicas, Paseo de Atocha, 13, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02775


U. HOLZER
BINDER
BOSTON, MASS.

